

THÈSE

pour l'obtention du Diplôme de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS
(Pharmacie)

présentée et soutenue le 23 Mai 1958

**LES ALCALOÏDES DES PERVENCHES
VINCA et CATHARANTHUS (Apocynacées)**

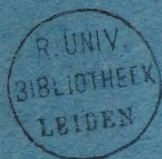
par.

MARCELLE GABBAI

Pharmacien

Diplômée des Certificats de Bactériologie

Immunologie et Sérologie de l'Institut Pasteur



JURY : MM. M. JANOT..... *Président*
R. PARIS..... *Professeur*
A. QUEVAUVILLER. *Professeur*

PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS

ADMINISTRATION

MM. René FABRE, Doyen, C. ✱, C. ✱, Membre de l'Institut.

R. DELABY, Assesseur, O ✱, C. ✱.

G. CUVIER, Secrétaire Général, ✱, ✱ I.

MM. JEANDEL, Secrétaire, ✱ I.; QUILLIOT, Rédacteur.

M^{me} ESPINASSE, Rédactrice, ✱ I.; M^{lle} DENNY, Rédactrice; M^{lle} BERIL, Rédactrice.

M^{me} CELLIER, Commis, ✱ A.; M^{lle} MORIN, Commis, ✱ A.; M^{me} CARON, Commis.

PROFESSEURS

MM. FABRE, C. ✱, ✱ C., Membre de l'Institut.

DELABY, ✱, C. ✱

JANOT, ✱, ✱ I.

VALETTE, ✱, ✱ I.

BEDEL, ✱, ✱ I.

PARIS, ✱, ✱ I.

GUILLOT, ✱, ✱ I.

GAUTIER, ✱, ✱ I.

M^{lle} LAMBIN, ✱, ✱ I.

MM. RAOUL, ✱ I.

COUKTOIS, ✱, ✱ I.

DOMANGE, ✱, ✱ I.

CRETE, ✱, ✱ I.

TRUHAUT, ✱, ✱ I.

MORETTE, ✱, ✱ I.

CAVIER, ✱ I.

QUEVAUVILLER, ✱ I.

MOREAU, ✱, ✱ I.

GUY, ✱ A.

GERMAN, ✱ A.

PIETTE, ✱ I.

Toxicologie.

Pharmacie chimique.

Pharmacie galénique.

Pharmacodynamie.

Législation, Déontologie et Histoire de la Pharmacie.

Histoire naturelle des Médicaments simples d'origine végétale.

Physique.

Chimie organique.

Microbiologie.

Zoologie appliquée.

Chimie biologique.

Chimie minérale.

Botanique.

Professeur à titre personnel.

Hydrologie.

Professeur à titre personnel.

Hygiène.

Chimie analytique.

Professeur à titre personnel.

Professeur sans chaire.

Professeur sans chaire.

Doyen Honoraire : M. RADAIS, C. ✱, ✱ I.

Professeurs honoraires : MM. DELEPINE, C. ✱, ✱ I.; LEBEAU, C. ✱, ✱ I. Membres de l'Institut.

HERISSEY, C ✱, ✱ I.; LAUNOY, C ✱, ✱ I.; FLEURY, O. ✱, ✱ I.;

MASCRE, O. ✱, ✱ I.; PICON, O. ✱, ✱ I.

MAITRES DE CONFÉRENCES

MM. DAMIENS

DEYSSON, ✱ I.

MALANGEAU, ✱ I.

FLAHAUT.

RENAULT J.

N...

N...

N...

N...

Sciences Physiques et Chimiques.

Sciences Naturelles.

Sciences Appliquées.

Sciences Physiques et Chimiques.

Sciences Physiques et Chimiques.

Sciences Naturelles.

Sciences Naturelles.

Sciences Physiques et Chimiques.

Sciences Physiques et Chimiques.

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

MM. BORY

BOURDON.

CORRIEZ, ✱ I.

DESIGNES

HARISPE, ✱ I.

LECLERC

M^{lle} LONGUEVALLE, ✱ I.

MM. MANGEOT, ✱ A.

PELLERIN.

RENAULT H., ✱ A.

SAVEL

M^{lle} ROLLEN, ✱, ✱ A.

Sérologie.

Chimie analytique (1^{re} Année).

Physique.

Microbiologie.

Chimie générale et pharmaceutique.

Chimie biologique.

Service des examens de Chimie.

Chimie (4^e Année).

Chimie analytique (2^e/3^e Années).

Chimie analytique (2^e/3^e Années).

Parasitologie.

Biologie végétale.

INSTITUT DE PHARMACOTECHNIE ET DE PHARMACODYNAMIE

M. GOUTAREL, ✱ A.

M^{lle} MORIN, ✱ A.

M. LUSINCHI

Chef de Travaux de Pharmacotechnie galénique.

Chef de Travaux de Pharmacodynamie.

Chef de Travaux de Pharmacotechnie chimique.

BIBLIOTHÈQUE

Conservateur : M. GARNIER, ✱, ✱ I.

Bibliothécaires : M^{lle} LAVAUD, ✱ I.; M^{mes} DESGRIPPES, ✱ A.; KREHMER, ✱ A.



A Monsieur le Professeur JAMOT

qui m'a accueilli dans son laboratoire
et m'a fait l'honneur de se proposer
ce sujet de travail

Témoignage de respectueuse gratitude

A Monsieur le Professeur PARIS

qui a accepté de juger ce travail

Témoignage de profond respect

A Monsieur le Professeur QUEVAUVILLER

qui a bien voulu faire partie de mon
jury de thèse

Témoignage de sincère reconnaissance

A Monsieur le Professeur LE MEN

qui m'a dirigée et aidée dans mes tra-
vaux et m'a fait bénéficier de sa haute
compétence

Qu'il soit assuré de ma profonde gratitude

Au Docteur BONNEFOI

qui m'a initiée à la discipline scien-
tifique

Témoignage de ma profonde reconnaissance

A mes parents

Je remercie Messieurs les Professeurs GUY et RAOUL qui ont mis à notre disposition leurs spectrographes UV et IR et Monsieur HESPEL et Madame HUELLE pour l'exécution des spectres IR.

Certaines déterminations analytiques ont été effectuées sous la direction de Monsieur le Professeur DAMIENS (service de Monsieur le Professeur DELABY) qu'il veuille bien trouver ici l'expression de mes remerciements.

Je remercie également Mademoiselle ROLLEN et Monsieur GUERIN qui m'ont guidée dans l'étude micrographique.

Au Docteur GOUTAREL qui nous a fait profiter de sa grande compétence dans le domaine alcaloïdique, ainsi qu'à tous les membres du laboratoire qui en maintes circonstances nous ont apporté leur concours : M. PCTIEN, Mmes et Melles CHOIX, VAN STOLK, FAN, TULEU, MM. POTIER, LE HIR, POISSON, PERCHERON, NGUYEN TAI NANG, FELLION, j'adresse toute ma reconnaissance.

Je remercie également MM. POIRIER et BERRET d'avoir bien voulu effectuer les déterminations analytiques, ainsi que Messieurs ROQUES, LALANDE et le Docteur ESTEVE à qui nous devons des envois de matières premières.

I - ETUDE BOTANIQUE

- Systématique des genres Vinca et Catharanthus
- Etude histologique
- Conclusion

II - ETUDE CHIMIQUE DES ALCALOÏDES DES PERVENCHES

A) Etude théorique

- a) des alcaloïdes de chacune des espèces
du genre Vinca
- b) des alcaloïdes de chacune des espèces
du genre Catharanthus

B) Etude expérimentale

III - ETUDE PHARMACOLOGIQUE

IV - CONCLUSION GENERALE

PREMIÈRE PARTIE

ETUDE BOTANIQUE

I) SYSTEMATIQUE DES GENRES VINCA et CATHARANTHUS

Les pervenches sont des plantes herbacées vivaces appartenant à la famille des Apocynacées et plus précisément à la tribu des Alstoniées, caractérisée par un fruit sec et déhiscent.

Selon l'Index Kewensis (1885), édition Princeps, toutes les pervenches doivent être rangées dans le genre Vinca, auquel sont adjoints en synonymie les genres : Lochnera, Catharanthus et Per-vinca.

Le genre Vinca comporte, à cette époque, dix espèces, à savoir:

- 1) V. difformis Pourr. (= V. acutiflora Bertol, = V. major Brot. = V. media Hoffmgg. et Link).
- 2) V. erecta Regel & Schmalh.
- 3) V. herbacea Waldst. (= V. minor Sm., = V. pusilla Clarke, = V. mixta Velen).
- 4) V. lancea Boj. ex A. DC.
- 5) V. libanotica Zucc. (= V. Bottae Jaub et Spath, = V. sessi-folia A. DC).
- 6) V. major Linn. (= V. grandiflora Salisb. , = V. ovati-folia Stokes, = V. pubescens Urv.).
- 7) V. minor Linn. (= V. ellipticifolia Stokes, = V. acuti-flora Bertol, = V. humilis Salisb. , = V. in-termedia Taush).
- 8) V. pusilla Murr. , (= V. parviflora Retz).

- 9) V. rosea Linn. , (= V. guillemi Waldemarii Klotzsch.
= V. speciosa Salisb.)
- 10) V. trichophylla Baker.

Les suppléments successifs de l'Index Kewensis parus jusqu'en 1945, amplifient encore le nombre d'espèces de Vinca :

Le Vinca Haussknechtii Bornm. et Sint apparaît au premier supplément en 1894.

Curieusement dans le même supplément, on voit l'espèce V. media Hoffmgg. et Link considérée comme une bonne espèce alors que dans l'ouvrage princeps , cette dernière était seulement indiquée en synonymie de l'espèce V. difformis.

Le troisième supplément paru en 1901-1905 introduit une nouvelle espèce le Vinca sternutatoria Poepp, mais dans le supplément de l'année 1910, cette même espèce n'est plus admise, elle est présentée en synonymie de l'Elytropus chilensis.

Le huitième supplément de 1930 enfin comporte une nouvelle espèce : le Vinca obliqua Porta.

Pendant toute la période antérieure à 1950, l'Index Kewensis, rappelons-le, considère comme non corrects les genres Catharanthus Lochnera et Pervinca. Mais le supplément de 1950 , faisant état d'une étude de Marcel Pichon (42) revient sur cette position et réhabilite le genre Lochnera.

Ainsi, la systématique des pervenches qui apparaissait d'après l'Index Kewensis comme assez fluctuante pendant toute la première moitié du 20^e siècle, va soudain se clarifier grâce aux recherches de Marcel Pichon.

En 1948, cet auteur procédant à une révision des Apocynacées appartenant à la tribu des Alstoniées (42), sépare nettement les genres Vinca et Lochnera dont il donne la description suivante :

GENRE VINCA

"Fleurs axillaires seules développées, à pédicelle long (plus de 2 cm). Sépales plus longuement concrescents à la base (tube au moins moitié aussi haut que l'ovaire), dentés-glanduleux de chaque côté près de la base. Tube de la corolle ample au-dessous des étamines (2,2-3 mm de diam.), fortement dilaté au-dessus ; indument suprastaminal plus lâche que l'infrestaminal, formé de poils non toruleux ; gorge sans cal ; glabre. Couronne présente. Filets beaucoup plus longs que les anthères, brusquement genouillés vers l'arrière, poilus en avant au-dessous du genou, aplatis et dilatés au-dessus. Anthères basifixes à connectif dilaté, séparant des loges et prolongé en grande lame spatulée poilue dorsalement. Disque à pièces 1 à 2 fois plus hautes que larges. Carpelles à 4 à 7 ovules plus gros ($\pm$ 0,30 mm de diam.). Style renflé-obconique vers le sommet. Clavuncule beaucoup moins haute que large, subdiscoïdale, papilleuse, bordée au sommet d'un cercle de poils unisériés. Stigmate développé en cône couronné de longs poils. Graines plus longues (3,5-14 mm), arrondies ou un peu atténuées aux extrémités, à sillon ventral profond. Testa brun, granuleux. Albumen épais".

GENRE LOCHNERA

"Fleurs terminales et axillaires ; pédicelles des fleurs axillaires courts (moins de 2 cm). Sépales très brièvement concrescents à la base, sans dents glanduleuses. Tube de la corolle

grêle au-dessous des étamines (0,5-2 mm de diam.) rétréci au dessus ; indument suprastaminal plus dense que l'infrastaminal, formé de poils toruleux ; gorge épaissie en cal poilu en dessus. Couronne absente. Filets courts ou à peine distincts, non genouillés, glabres, cylindriques ou calliformes. Anthères dorsifixes glabres, à loges contiguës, sans prolongement, à connectif indistinct. Disque à pièces 4 à 8 fois plus hautes que larges. Carpelles à 10-30 ovules très petits (0,10 - 0,18 mm de diam.). Style non renflé au sommet. Clavoncule au moins aussi haute que large, densément pubescente vers la base et le sommet et papilleuse dans la région moyenne ; Aire stigmatique sessile sur la clavoncule , glabre. Graines courtes (1,4-3 mm) tronquées aux extrémités, à dépression ventrale faible. Testa noir ou noirâtre, scrobiculé. Albumen mince, tendre ".

A la suite de la présentation de la clef distinctive les genres Vinca et Lochnera, Marcel Pichon s'exprime en ces termes :

" Certains botanistes maintiennent encore les Lochnera dans les Vinca . C'est une absurdité étant donné que quelques trente quatre différences les séparent".

Ainsi pour cet auteur, trop tôt ravi à la science et à l'affection de ses collaborateurs et amis, les pervenches doivent être rattachées à deux genres bien distincts : Lochnera et Vinca.

Le genre Lochnera comporte six espèces dont quatre sont endémiques à Madagascar (N^o I, II, III et IV), une est spéciale à l'Inde (N^o V), la sixième (N^o VI) est pantropicale.

- I) Lochnera lancea (Boj. D.C.)
- II) Lochnera longifolia Pichon
- III) Lochnera scitula Pichon
- IV) Lochnera trichophylla Baker. (V. trichophylla)
- V) Lochnera pusilla Murr. (= V. pusilla, Murr. ;
= V. parviflora Retz).
- VI) Lochnera rosea Linn. (= V. gulielmi Waldermarii
Klotzsch, = V. speciosa Salisb.)

Mais dans la même publication citée en référence (42), Marcel Pichon fait état d'une communication personnelle qui lui fut adressée par le botaniste : Dr R.C. Bakhuizen van den Brink, conservateur du Rijksherbarium de Leyde. "Il a attiré dernièrement notre attention et nous l'en remercions, sur le fait que Lochnera Reichb. f. , consp. dec. (1828) est un "nomen nudum" et que la diagnose correspondante, qui n'a été publiée que par Endlicher, gen. (Août 1838), se trouve antidatée par Catharanthus G. Don, gen. syst., IV février (1838)".

Ainsi pour respecter les règles de la nomenclature botanique, le genre Lochnera doit être remplacé par le genre Catharanthus et les six espèces précitées doivent faire place aux six espèces suivantes :

- I) Catharanthus lanceus Boj. (A. DC.)
- II) Catharanthus longifolius (Pichon)
- III) Catharanthus scitulus (Pichon)

- IV) Catharanthus trichophyllus (Bak.)
 V) Catharanthus pusillus (Murr.)
 VI) Catharanthus roseus (L.)

Tel est le point actuel de la classification des pervenches tropicales rattachées au genre Catharanthus.

Quant aux pervenches croissant dans les régions tempérées , elles doivent être rattachées au genre Vinca et pour établir leur classification, nous ferons appel une fois encore à une publication de Marcel Pichon parue en 1951 (43).

Suivant cet auteur, trois espèces seulement doivent être conservées. Les autres espèces antérieurement décrites doivent être considérées comme des variétés "des formes ou des accommodats".

La clef distinctive des espèces et variétés est ainsi présentée par Marcel Pichon :

- " I) Pousses toutes analogues, florifères, $\pm$ couchées ou rarement dressées. Glandes foliaires insérées, sur la plupart d e s feuilles, au-dessous du milieu du pétiole, ou absentes

V. HERBACEA

Corolle à tube court (8 - 16 mm).

Limbes à bords $\pm$ lisses var. libanotica

Limbes à bords $\pm$ scabres ou ciliés var. herbacea

Corolle à tube long (18 - 26 mm).

Limbes à bords lisses var. sessilifolia

- 2) Pousses dimorphes, les unes florifères et dressées, les autres stériles et $\dagger$ couchées ou retombantes. Glandes foliaires insérées sur la plupart des feuilles, à mi-hauteur du pétiole ou au-dessus. Limbes atteignant pour la plupart leur largeur maximum au-dessous du milieu. Sépales de 5-17 mm de long

V. MAJOR

Limbes à bords lisses ou rarement

un peu scabres var. difformis

Limbes à bords franchement ciliés var. major

Limbes atteignant pour la plupart leur largeur maximum à mi-hauteur, au moins sur les pousses florifères. Sépales de 2,4-4,8 mm de long V. MINOR "

Le tableau suivant également emprunté à Marcel Pichon indique les espèces et variétés avec leur synonymie.

- I) Vinca herbacea Waldst. et Kit. - V. pumila Clarke ; - V. libanotica Zucc. - V. sessilifolia A. DC. - V. Bottae Jaub. et Spach. V. erecta Regel et Schmalh. - V. mixta Velen. - V. Hausaknechtii Bornm. et Sint.

Trois variétés :

- Var. libanotica (Zucc.) stat. nov. - Vinca libanotica Zucc. - V. herbacea Wldst. et Kit. var. glaberrima A. DC. - V. Bottae Jaub. et Spach. - V. erecta Regel et Schmalh.

- Var. herbacea. - Vinca herbacea Waldest. et Kit., et subsp. et var.,
var. glaberrima excepta. - V. pumila Clarke. - V. mixta (Velen)
V. erecta Regel et Schmalh. var. bucharica B. Fedtsch.
- Var. sessilifolia (A. DC.) stat. nov. - V. sessilifolia A. DC. -
V. Haussknechtii Bornm. et Sint.

- 2) Vinca major L. , - Pervinca major (L.) Garsault. - Vinca diffor-
mis Pourr. - V. grandiflora Salisb. - V. media Hoffmgg. et Link.
V. ovatifolia Stokes. - V. pubescens Urv. - V. acutiflora Bertol.
V. intermedia Tausch. - V. obliqua Porta. - V. Pervinca media
(Hoffmgg. et Link) Caruel. - Vinca obtusiflora Pau. - V. lusi-
tanica Brot.

Deux variétés :

- Var. difformis (Pourr.) stat. nov. - Vinca difformis Pourr. - V.
media Hoffmgg. et Link. - V. acutiflora Bertol. - V. intermedia
Tausch. - Pervinca media (Hoffmgg. et Link) Caruel. - Vinca ob-
tusiflora Pau. - V. major L., var. glabra F. Schultz.
 - Var. major. - Vinca major L. et var. , var. glabra F. Schultz
excepta. - Pervinca major (L.) Garsault. - Vinca grandiflora Sa-
lisb. V. ovatifolia Stokes. - V. pubescens Urv. - V. obliqua Porta.
- 3) Vinca minor L. - Pervinca minor (L.) Garsault. - P. procumbens
Gilib. , - Vinca humilis Salisb. - V. ellipticifolia Stokes.

Remarquons toutefois comme l'indique Marcel Pichon lui-même ,
que l'identification botanique des pervenches même à partir d'échan-
tillons d'herbier complets avec fleurs et fruits demeure un problème

difficile et que "l'appréciation de la valeur des formes n' est guère possible que sur le terrain", "deux bons caractères de formes disparaissent à la dessiccation: la couleur des fleurs se perd et le contour des lobes de la corolle se conserve rarement sans plis ni déchirures".

Nous renvoyons à la publication de Pichon (43) pour la description morphologique et la localisation géographique des diverses espèces et variétés de Vinca.

C'est à ces descriptions que nous nous sommes reportée pour l'identification des matières premières sur lesquelles nous avons travaillé.

II) ETUDE HISTOLOGIQUE DES GENRES VINCA ET CATHARANTHUS

L'étude histologique des pervenches ne paraît pas avoir fait l'objet de travaux approfondis. On trouve cependant dans les ouvrages de Solereder et de Metcalfe (32) (53) des références sur la famille des Apocynacées.

Nous avons pensé qu'il serait intéressant d'effectuer une étude histologique systématique de toutes les espèces de Vinca et de Catharanthus en notre possession.

Nous présentons ci-dessous les conclusions auxquelles nous sommes arrivées selon le plan suivant :

- I) Etude histologique des racines
- 2) " " tiges
- 3) " " feuilles

Dans chacun de ces paragraphes, les genres Vinca et Catharanthus seront étudiés comparativement.

ETUDE HISTOLOGIQUE DES RACINES

A) GENRE VINCA

I) Racine du Vinca minor

La racine du Vinca minor, dont le diamètre est d'environ 1 mm pour les parties moyennes, présente un aspect chevelu.

Des coupes transversales ont été faites sur des échantillons provenant de la région parisienne, et traitées par la méthode de la double coloration (carmin aluné, vert d'iode).

On a observé de l'extérieur vers l'intérieur :

- un suber régulier peu développé formé de cellules rectangulaires, 2 à 3 assises ;
- un parenchyme cortical constitué de grandes cellules à parois cellulodiques, assez épaisses dans les premières assises ;
- un endoderme net à cellules rectangulaires à épaississements latéraux ;
- un liber en anneau continu, très réduit et souvent écrasé au contact du bois ;
- un parenchyme ligneux entièrement lignifié, occupant la moitié de la racine, de structure radiale. On trouve des vaisseaux ponctués, épars, de dimension variable.

Le Soudan III révèle la présence de quelques latificères dans le liber.

2) La racine du Vinca major est très semblable à celle du Vinca minor mais se distingue par son plus grand diamètre (env. 2 mm dans les parties moyennes).

B) GENRE CATHARANTHUS

I) Catharanthus roseus

La racine du Catharanthus roseus présente de l'extérieur vers l'intérieur :

- un suber formé de deux ou trois assises à cellules rectangulaires en files radiales;
- un parenchyme cortical formé de grandes cellules irrégulières
- un endoderme peu différencié ;
- un liber continu plus important que dans les racines de Vinca et dans lequel se trouvent quelques laticifères;
- un parenchyme ligneux entièrement lignifié, de structure radiale, renfermant des vaisseaux de petite taille.

Comparaison entre les racines des deux genres

Les racines de Catharanthus présentent peu de différences avec celles des Vinca, mais se distinguent cependant par la présence d'un endoderme peu différencié formé de cellules aplaties sans épaississement. D'autre part l'endoderme, lorsqu'il est présent, est assez externe, alors que dans le genre Vinca il est situé dans une zone plus profonde

Chez le Catharanthus trichophyllus, que nous avons étudié et dont nous ignorons malheureusement l'âge, on observe quelques assises de phelloderme.

Les racines des pervenches tropicales sont beaucoup plus développées que celles des pervenches des régions tempérées.

L'échantillon de Catharanthus roseus que nous avons étudié provenait de Madagascar et possédait un diamètre d'env. 8mm dans les parties moyennes.

ETUDE HISTOLOGIQUE DES TIGES

A) GENRE VINCA

1) Vinca minor

la tige du Vinca minor présente de l'extérieur vers l'intérieur:

- un épiderme formé de cellules rectangulaires dont la face externe est bombée ; la cuticule est épaisse ;
- un parenchyme cortical formé de grandes cellules arrondies à parois cellulósiques, assez épaisses dans les premières assises (5 ou 6 assises), dans lequel se trouvent répartis de nombreux amas de fibres pérícycliques cellulósiques à parois légèrement ondulées et à lumen étroit ;
- un liber continu, réduit, et formé de cellules écrasées au contact des fibres pérícycliques ;
- un parenchyme ligneux entièrement lignifié, de structure radiale; on trouve dans le bois des vaisseaux épars, plus nombreux vers la moelle ;
- une moelle cellulósique partiellement résorbée, formée de cellules hexagonales de plus en plus grandes vers le centre. Sur le pourtour de la moelle, se trouvent répartis des îlots de tissu criblé pérímédullaire en amas réguliers, et très nombreux.

Au moyen du soudan III, on a pu mettre en évidence des laticifères vrais localisés entre les fibres pérícycliques et le liber . Ces laticifères sont très nombreux dans le genre Vinca.

2) La tige du Vinca major est identique à celle de Vinca minor.

B) GENRE CATHARANTHUSI) Catharanthus roseus

la tige présente de l'extérieur vers l'intérieur:

- un épiderme avec cuticule moins épaisse que dans le genre Vinca;
- un parenchyme cortical à grandes cellules arrondies à parois assez épaisses dans les premières assises ;
- des amas de fibres péricycliques moins nombreux que dans le genre Vinca ;
- un liber continu et réduit ;
- un parenchyme ligneux entièrement lignifié ;
- une moelle partiellement résorbée formée de grandes cellules présentant sur son pourtour de nombreux flots de tissu criblé pérимédullaire, moins importants que dans le genre Vinca ;

Par coloration au soudan III, on a mis en évidence des laticifères vrais localisés entre les fibres péricycliques et le liber.

2) Catharantus trichophyllus

L'échantillon examiné présente des caractères histologiques identiques à ceux du Catharanthus roseus, mais se différencie par la présence de poils tecteurs unicellulaires très nombreux, disséminés sur le pourtour de la tige, alors que Baker (J. Linn.Soc. 1883, 20, 204) signale une tige glabre.

ETUDE HISTOLOGIQUE DES FEUILLES

A) GENRE VINCA

1) Vinca minor

La nervure médiane présente :

- un épiderme formé de cellules rectangulaires à surface externe bombée ;
- une cuticule très épaisse , sur laquelle on observe quelques cellules papilleuses (uniquement sur la nervure supérieure) ;
- un collenchyme épais, formé de trois assises ;
- un parenchyme général dans lequel se trouve réparti un arc libéro-ligneux unique à concavité tournée vers le haut : en bas le liber normal puis, le bois formé de quelques assises de cellules en files radiales. Le bois est constitué par des vaisseaux à peu près de même taille qui lui donnent un aspect homogène. Ce phénomène se rencontre très souvent chez les organes jeunes de Apocynacées. Au-dessus du bois, des flots assez importants de tissu criblé pérимédullaire.

Autour de l'arc libéro-ligneux, on observe quelques fibres péricycliques restées cellulósiques, isolées , très peu nombreuses, et difficilement visibles.

Au moyen du soudan III, on a mis en évidence des laticifères vrais dans le liber normal et le liber pérимédullaire.

Structure du limbe : On observe :

- un parenchyme palissadique sous l'épiderme supérieur, formé de

deux assises de cellules rectangulaires ;

- un parenchyme lacuneux à cellules à contour arrondi ;
- un épiderme inférieur portant de nombreux stomates se caractérisant par la présence de deux cellules annexes.

2) Vinca major

présente les mêmes caractéristiques histologiques que les feuilles du Vinca minor , mais se distingue très nettement par la présence sur l'épiderme supérieur de la nervure médiane de poils tecteurs unicellulaires, allongés et légèrement recourbés, ne se détachant pas du fait de l'épaisseur de la cuticule.

B) GENRE CATHARANTHUS

1) Catharanthus roseus

L'échantillon examiné présente dans la nervure médiane :

- un épiderme supérieur sur lequel sont répartis quelques poils tecteurs unicellulaires ;
- une cuticule très mince ;
- pas de collenchyme ;
- un parenchyme dans lequel se trouve un arc libéro-ligneux unique à concavité tournée vers le haut, moins développé que dans le genre Vinca , avec flots de tissu criblé périnédullaire ;

au niveau du limbe, on observe :

- des poils tecteurs unicellulaires peu nombreux ;
- sous l'épiderme supérieur, une seule assise de tissu palissadique ;

- un parenchyme non lacuneux à grandes cellules ;
- un épiderme inférieur portant de nombreux stomates se différenciant des stomates du genre Vinca par des cellules annexes ne présentant pas de différenciation particulière.

2) Catharanthus trichophyllus

L'échantillon examiné présente la même forme que celle du Catharanthus roseus mais se différencie par la présence du collenchyme et de poils tecteurs plus nombreux unicellulaires ou pluricellulaires unisériés.

CARACTERES GENERAUX DES FEUILLES VINCA ET CATHARANTHUS

NERVURE MEDIANE : Elle est fortement proéminente à la face inférieure et plus ou moins à la face supérieure. Le système conducteur est représenté par un seul arc libero-ligneux à concavité tournée vers le haut. On trouve des laticifères dans le liber normal qui sont beaucoup plus nombreux dans le genre Vinca que dans le genre Catharanthus.

LIMBE : L'épiderme supérieur présente des cellules à peu près rectangulaires ; la cuticule est d'épaisseur variable selon le genre, plus épaisse chez le genre Vinca. Sous l'épiderme supérieur, le tissu palissadique présente une ou deux assises de cellules prismatiques. Le parenchyme central plus ou moins lacuneux, est formé de quatre à cinq assises de cellules à contour arrondi. L'épiderme inférieur se compose de cellules ayant à peu près la même structure que celles de l'épiderme supérieur, mais plus petites.

L'épiderme inférieur porte des stomates nombreux, mais qui sont différents suivant le genre Vinca et Catharanthus, les stomates, dans le genre Vinca sont accompagnés de deux cellules annexes, alors que celles du genre Catharanthus ne présentent pas de différenciation particulière.

Alors que les localisations géographiques des Vinca d' u n e part et Catharanthus d'autre part, sont nettement distinctes, on aurait pu s'attendre chez ces dernières à voir apparaître des caractères d'adaptation à la sécheresse. Or il n'en est rien et d' une façon surprenante même, la cuticule des feuilles de Vinca est plus développée que celle des Catharanthus.

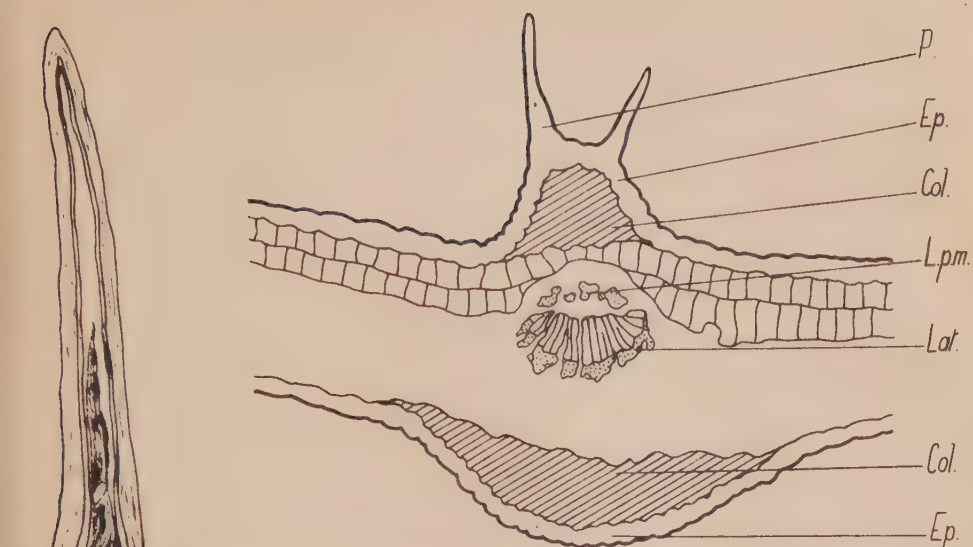
III - CONCLUSION

En France, seul le Vinca minor est officinal. Or, dans le commerce de la droguerie des plantes médicinales, la petite et la grande pervenche (Vinca major) sont souvent confondues. Cette falsification peut aisément être dépistée, étant donné que les feuilles du Vinca major sont nettement plus longues et larges que celles de Vinca minor.

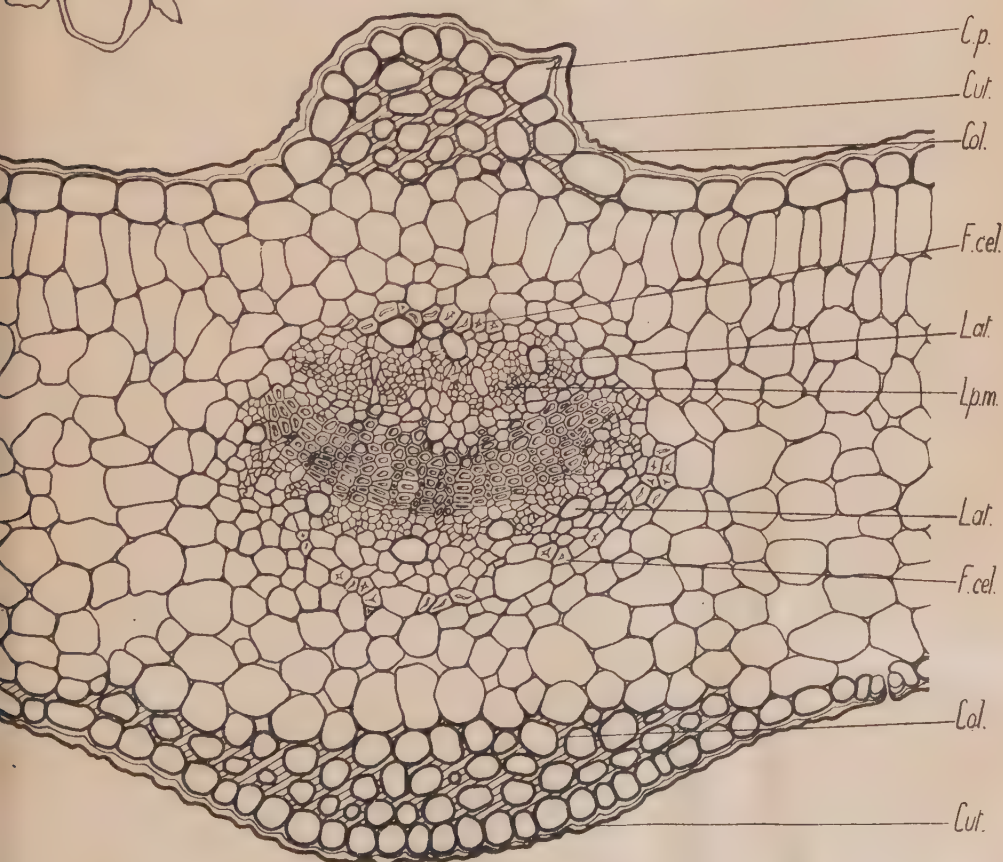
La présence de poils sur la nervure médiane et de cils sur le pourtour de la feuille de grande pervenche, et leur absence sur la feuille de l'espèce officinale, constituent un caractère supplémentaire qui permet d'écarter la falsification.

Au surplus, les différences de composition chimique que nous verrons apparaître entre ces deux espèces en deuxième partie, laissent envisager la possibilité d'une diagnose chimique qui a d'ailleurs fait l'objet d'une publication de R. Paris et H. Moyse-Migon (38).

Etant donné ce qui précède, nous avons jugé utile de représenter le dessin de détail de la feuille officinale du Vinca minor et, par comparaison, le schéma de celle du Vinca major.



Poils et schéma de VINCA MAJOR



VINCA MINOR

DEUXIEME PARTIE

ETUDE CHIMIQUE DES ALCALOÏDES DES PERVENCHES

A) Etude théorique

I N T R O D U C T I O N

Bien que divers constituants chimiques aient été isolés de *pervenches* : hétérosides, triterpènes, stéroïdes, hydrocarbure, nous avons limité nos recherches à la seule étude des alcaloïdes.

Etant donné, d'une part, que nous nous sommes surtout attachée à l'extraction et à la séparation des alcaloïdes de chacune des espèces de *pervenches* et étant donné, d'autre part, que les alcaloïdes présents dans chacune de ces espèces sont nettement distincts, nous avons pensé qu'il était logique, même pour la présentation de cette partie chimique de notre travail, d'adopter là encore, comme plan, la classification botanique. Cependant, nous avons cru bon de séparer nettement la partie théorique de la partie expérimentale et dans chacune d'elles le plan suivant sera adopté :

- I) Vinca minor
- II) V. major
- III) V. difformis
- IV) autres Vinca
- V) Catharanthus roseus
- VI) C. lanceus
- VII) C. trichophyllus

1) ALCALOIDES DU VINCA MINOR

L'étude chimique de la petite pervenche a été abordée par Lucas (30) dès l'année 1859. Cet auteur isole une poudre grise soluble dans les acides, précipitable par le tanin, par le chlorure de platine et le chlorure d'or. A cette substance présentant tous les caractères des bases aminées végétales, Lucas donne le nom de vincine. En 1932, Vintilescu et Ioanid (58) confirment la présence d'alcaloïdes dans le Vinca minor et la même année, Rutishauser (50), dans une thèse consacrée à la petite pervenche, arrive aux mêmes conclusions.

Mais il faut attendre l'année 1953 pour que Schlittler et Furlenmeier (52) isolent de cette plante un alcaloïde cristallisé : la vincamine $C_{21}H_{26}O_3N_2$. A la même époque, M. -M. Janot et J. Le Men (14) extraient des feuilles de la petite pervenche : 1 a vincamine des auteurs suisses ainsi qu'un second alcaloïde cristallisé : la vincamirine, isomère de la vincamine.

En 1954 enfin, Paillet et Belohlav (36) retrouvent dans cette même espèce la vincamine accompagnée d'un second alcaloïde cristallisé : l'isovincamine.

Nous avons fait figurer dans le tableau ci-dessous les constantes physiques de ces alcaloïdes rapportées par les auteurs :

	<u>Formule</u>	<u>Fusion</u>	
VINCAMINE	$C_{21}H_{26}O_3N_2$	232-233°	+ 4I + 4° (pyridine) Schlittler
VINCAMIRINE	$C_{21}H_{26}O_3N_2$	271° (bloc)	+ 43 ± 4° (pyridine) Janot
ISOVINCAMINE	$C_{21}H_{26}O_3N_2$	218-219°(tube)	+ 28 ± 2° (pyridine) Paillet

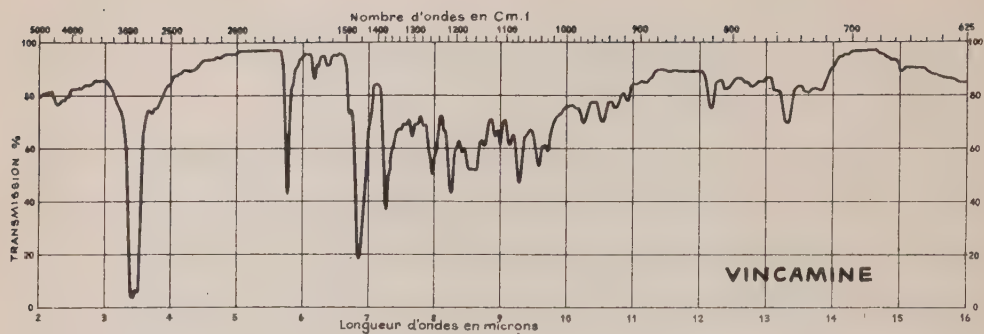


Fig. I

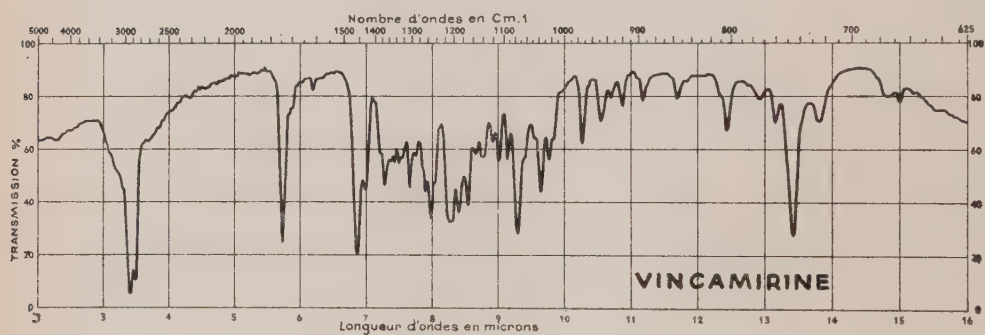
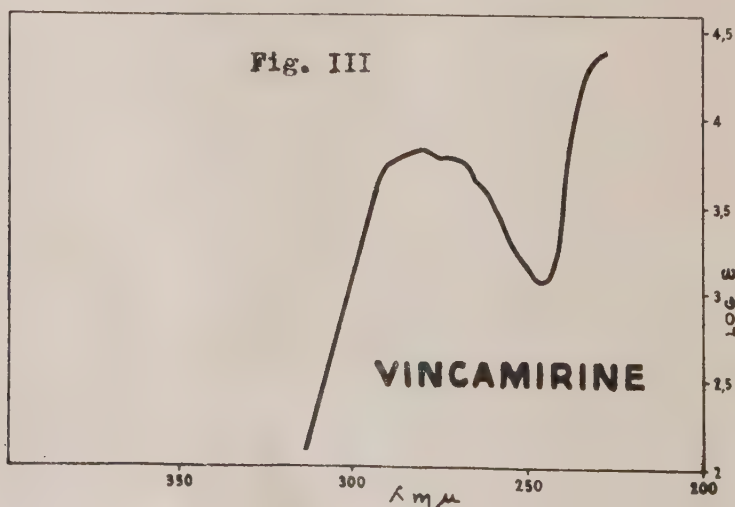


Fig. II



Précisons encore que les formes cristallines de la vincamirine et de l'isovincamine sont toutes deux différentes de celle de la vincamine, par contre les spectres U-V et les spectres IR de ces trois alcaloïdes sont presque superposables.

Le spectre U V de la vincamirine, inchangé en milieu alcalin, maximum : $\lambda_{m\mu}$: 225, $\log \varepsilon$: 4,4 et $\lambda_{m\mu}$: 280, $\log \varepsilon$: 3,82, indique que cette molécule comporte un chromophore indolique typique.

Son spectre IR présente une absorption peu intense vers $3,2 \mu$ laissant prévoir l'existence d'un groupement OH ou NH associé ; à $5,71 \mu$ une bande ester saturé et à $9,33 \mu$ une bande pouvant correspondre à l'enchaînement (C-O-C).

La vincamine répond à la formule brute $C_{21}H_{26}O_3N_2$ et comporte d'après l'analyse : un groupement méthoxyle, un seul atome d'hydrogène mobile, et pas de groupement $N-CH_3$, ni $C-CH_3$.

La vincamine donne un monochlorhydrate $C_{21}H_{26}O_3N_2 \cdot HCl$, montrant ainsi qu'un seul des atomes d'azote est basique (celui-ci n'étant pas l'azote indolique) comme c'est la règle générale chez les alcaloïdes de ce type.

Bien que la formule brute de la vincamine soit identique à celle de la yohimbine, la présence d'un seul atome d'hydrogène mobile semble devoir écarter l'hypothèse d'une structure yohimbique.

Le fait que la vincamine ne donne pas, par traitement thermique avec le sélénium, les produits classiques de déshydrogénation des alcaloïdes yohimbiques, confirme cette conclusion.

TRAVAUX PERSONNELS

Nous avons pu préparer la vincamine et la vincamirine de s' auteurs précédents ; les constantes physiques que nous avons observées, sont les suivantes :

	F	$[\alpha]_D$
VINCAMINE	232-233° (tube)	+ 41° pyridine
	232-233° (bloc)	- 13° chloroforme
VINCAMIRINE	218-220° (tube)	+ 33° pyridine
	270-271° (bloc)	- 7° chloroforme

Les spectres U V (fig. III) et IR (fig. I et II) de ces deux alcaloïdes sont rigoureusement superposables.

Alors que la vincamine cristallise du méthanol ou de l' acé-
tone en fines aiguilles, la vincamirine précipite de ces mêmes
solvants sous forme de prismes massifs ; mais il nous est arrivé
parfois d'obtenir le mélange des deux formes ; les constan tes
physiques observées sont alors intermédiaires.

Bien que nous n'ayons pu réaliser de façon nette le passage
quantitatif de la vincamine à la vincamirine, ou le passage in-
verse, nous pensons, étant donné les spectres, qu'il s'agit d e
deux formes cristallines d'une seule et même entité chimique et
il en va de même, sans aucun doute, de l'isovincamine de Pailer.

Les essais de détermination de structure que nous avons pra-
tiqués, ont été effectués parfois en double avec la vincamine d'
une part et la vincamirine d'autre part, et nous n'avons jamais
observé de différence quelconque de comportement entre ces deux
substances. Il ne sera donc question désormais que de la vinca-
mine.

Le spectre IR de la vincamine, laissant prévoir la présence d'une fonction ester, nous avons tenté trois réactions en vue d'en confirmer l'existence : la saponification alcaline, l'hydrolyse acide et la réduction par l'hydrure de lithium-aluminium ; mais aucun produit cristallisé n'est résulté de ces opérations ; si bien que nous ne pouvons encore tirer aucune conclusion quant à la structure de la vincamine.

Avant de clore ce chapitre relatif à la petite pervenche, signalons encore que Scheindlin et Rubin (51) ont extrait d'un Vinca minor croissant en Amérique du Nord, un alcaloïde indolique différent de la vincamine et de ses isomères : la perivincine :
 $C_{23}H_{26}O_4N_2$, F 201-202°.

2) ALCALOIDES DU VINCA MAJOR

Quatre alcaloïdes cristallisés ont jusqu'ici été extraits des parties aériennes de la GRANDE PERVENCHE (Vinca major L.) par M.-M. Janot et J. Le Men (16) (17) (19) (20), à savoir : la réserpinine, la vincamajoridine ou akuammine, la vincamajine et la vincamajoréine.

Nous avons personnellement étudié diverses méthodes d'extractions des alcaloïdes totaux et nous avons précisé les teneurs en alcaloïdes des diverses parties de la plante.

<u>Origine Géographique</u>	<u>Partie végétale utilisée</u>	<u>Rendement % en alcaloïdes totaux</u>			
Bassin Parisien	feuilles	0,43	0,5	0,6	%
	tiges	0,45	0,6		
	racines	0,35			
Vendée	feuilles	0,5	0,6	0,65	
	tiges		0,45		
Languedoc	feuilles + tiges		0,7		
Velay	feuilles + tiges		0,6		

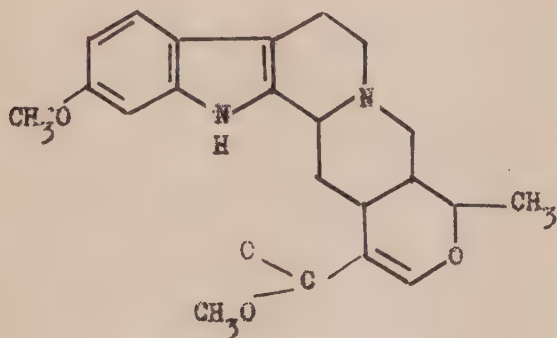
La technique de chromatographie des bases totales sur alumine d'activité I nous a permis d'isoler la réserpinine et la vincamajoridine.

Par contre, certains échantillons de Vinca major examinés ne renferment ni vincamajine, ni vincamajoréine.

En dépit d'efforts répétés, aucun autre alcaloïde cristallisé n'a pu être isolé du Vinca major.

Nous allons successivement exposer les connaissances acquises sur la structure des quatre alcaloïdes isolés de la grande pervenche.

La RESERPINE avait antérieurement été extraite du Rauwolfia serpentina (16) et sa structure (I), bien établie, correspond à la méthoxy 11 δ yohimbine (Formule I).



La VINCAMAJOREINE est décrite par M.-M. Janot et J. Le Men comme une base cristallisée blanche, F 271° (bloc), F 246-247° corr. (tube), sublimable à 230° sous 0,01 mm de mercure.

Elle fournit une coloration orangée avec le réactif de Keller et une coloration rouge avec l'acide nitrique.

Les deux atomes d'oxygène présents dans la formule $C_{21}H_{26}O_2$ seraient tous deux engagés sous forme de méthoxyle

Le spectre IR d'ailleurs ne comporte, ni bande hydroxyle, ni bande carbonyle et l'on trouve à $12,38 \mu$ la bande caractéristique du benzène trisubstitué.

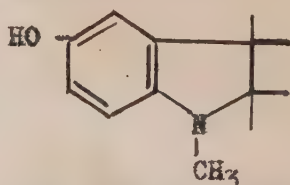
Le spectre U V présente deux maximums à $\lambda_{\text{m}\mu}$: 2,46 ; $\log \varepsilon$: 4,13 et $\lambda_{\text{m}\mu}$: 3,08 ; $\log \varepsilon$: 3,66. Ce spectre ne subit pas de modification en milieu alcalin et les auteurs précités supposent que ce spectre correspond à un chromophore méthoxy 5 dihydro-indolique.

Les échantillons de grande pervenche sur lesquels nous avons travaillé, ne nous ayant pas permis d'isoler à nouveau la vincamajoréine, nous n'avons pu poursuivre la détermination de structure de cet alcaloïde.

La VINCAMAJORIDINE fut plus tard identifiée (23) à l'akuammine, l'un des nombreux alcaloïdes antérieurement extraits du Picralima klaineana et du Picralima nitida. Le nom d'akuammine doit donc prévaloir et c'est lui que nous emploierons désormais.

L'akuammine répond à la formule brute $\text{C}_{22} \text{H}_{26} \text{O}_4 \text{N}_2$ et comporte les groupements fonctionnels suivants : un OCH_3 , un N-CH_3 et un C-CH_3 . Elle est soluble en milieu alcalin et fournit une coloration jaune rougeâtre avec le chlorure ferrique ; ces propriétés orientent vers l'existence d'une fonction phénol libre.

Son spectre U V, modifié en milieu alcalin, indique clairement la présence d'un chromophore hydroxy 5 indolinique (II) : maximums à $\lambda_{\text{m}\mu}$: 252 ; $\log \varepsilon$ 4,06 et $\lambda_{\text{m}\mu}$: 328 ; $\log \varepsilon$ 3,70.

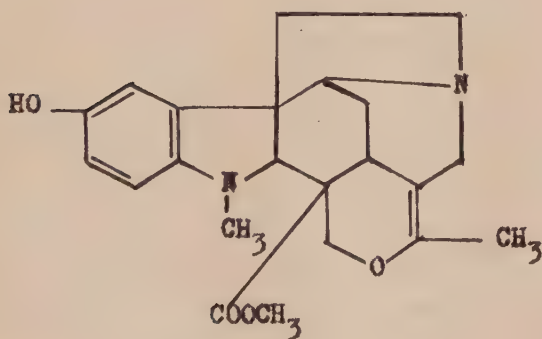


(Formule II)

Son spectre IR révèle la présence d'une bande OH très intense à $2,96 \mu$, d'une bande ester à $5,7 \mu$ et entre 12 et 13μ les bandes du cycle benzénique 1-2-4 trisubstitué.

D'après Millson, Robinson et Thomas (33), l'akuammine s'hydrogène lentement à froid au contact du charbon palladié en donnant un dérivé dihydrogéné, la présence d'une double liaison est donc probable.

Les mêmes auteurs ont encore montré que la distillation de l'akuammine sur poudre de zinc, fournit notamment de l'éthyl-3 pyridine . S'appuyant de plus sur certaines analogies avec la strychnine et sur des arguments biogénétiques, Robinson a proposé pour l'akuammine , la structure III comme hypothèse de travail.



(Formule III)

TRAVAUX PERSONNELS

Thomas A. Henry et T.A. Sharp (10) avaient préparé un dérivé monoacétylé de l'akuammine $C_{24}H_{26}O_5N_2 \cdot F 226^2$.

Le dérivé monoacétylé, que nous avons obtenu, fond à 236^2 ; il ne se comporte plus comme un phénol. Son spectre IR (Fig. IV) ne présente plus de bande OH à $2,96\mu$ mais laisse apparaître deux bandes carbonyle à $5,78\mu$ et $5,65\mu$, et une bande ester acétique à $8,17\mu$; ce qui montre bien que l'acétylation a porté sur l'OH phénolique.

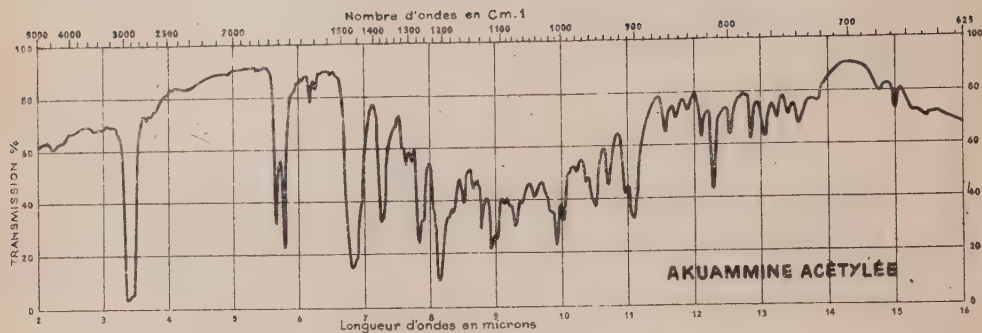


Fig. IV

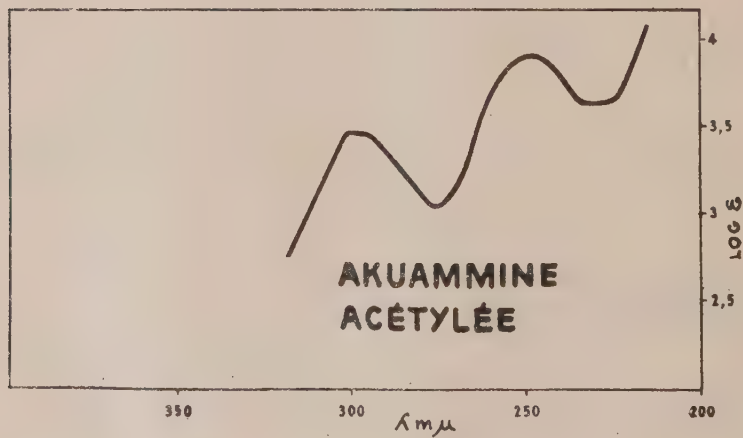


Fig. V

Nous avons tenté la réduction de l'akummine par l'hydruure de lithium-aluminium, mais la présence de la fonction phénol, rend impossible l'extraction et la purification du dérivé réduit. Aucun produit cristallisé n'a pu être isolé de cette opération.

Enfin le dosage des dérivés acylés angulaires selon la technique du Kuhn-Roth, modifiée (39), donne un $C-CH_3$ et non un $C-CH_2-CH_3$.

La VINCAMAJINE isolée en 1955 du Vinca major par M.-M. Janot et J. Le Men fut retrouvée l'année suivante par S. Goodwin et E. Horning dans une autre Apocynacée : le Tunduzia longifolia (8)

La vincamajine répond à la formule $C_{22}H_{26}O_3N_2$ et comporte les groupements fonctionnels suivants : un OCH_3 , un $N-CH_3$ et un H^+ . Son spectre U-V, non modifié en milieu alcalin, indique la présence d'un chromophore indolinique; maximums à $\lambda_{m\mu}$: 248 ; $\log \epsilon$: 3,68 et $\lambda_{m\mu}$: 291 ; $\log \epsilon$: 3,23.

Son spectre IR (fig. VI) présente notamment au-delà de 3μ une forte absorption pouvant correspondre à un OH associé et à $5,81\mu$ une bande CO ester en position normale.

La vincamajine fournit un monochlorhydrate $C_{22}H_{26}O_3N_2 \cdot HCl$: P 259°-261° ; $[\alpha]_D^{20} = -40 \pm 4^\circ$ ($c = 0,38$ eau). Un seul des deux atomes d'azote est donc salifiable comme on l'observe classiquement dans la série des alcaloïdes indoliques ou indoliniques biazotés.

Le spectre IR de ce chlorhydrate de vincamajine comporte à $3,15\mu$ une bande OH non associée et à $4,2\mu$ la bande NH^+ des sels d'amines tertiaires.

L'étude spectrale qui précède et le dosage des atomes d'hydrogène mobiles, laissent prévoir l'existence d'une fonction hydroxyle non phénolique (spectre U V non modifié en milieu alcalin). En vue de préciser la nature de cette fonction OH, nous avons tenté, mais sans succès, d'acétyler la vincamajine. De cet échec, il paraît légitime de conclure que la vincamajine possède une fonction alcoolique tertiaire.

Le peu de matière première disponible ne nous a pas permis d'étudier les réactions de déshydratation.

Le spectre IR de la vincamajine et le dosage des groupements méthoxyles laissent supposer la présence d'une fonction ester méthylique, nous avons cherché une preuve chimique de l'existence d'une telle fonction par l'étude de deux réactions : la saponification alcaline, la réduction par l'hydrure de lithium-aluminium.

I) Saponification alcaline

Par saponification avec la potasse méthylique de la vincamajine, il se forme deux produits A et B. Le produit A : F 268-270° présente un caractère basique et répond à la formule $C_{21}H_{26}O_2N_2$. Son spectre U V (fig. VII) est différent de celui de la vincamajine et concorde très sensiblement avec celui de la vincamajoréine ($C_{21}H_{26}O_2N_2$). Son spectre IR (fig. VIII) ne comporte plus de fonction carbonyle, il est superposable à celui de la vincamajoréine. L'identité de ces deux produits semble donc acquise. La formation de vincamajoréine par saponification de la vincamajine est singulière. Il apparaît impossible actuellement d'interpréter notamment la modification spectrale dans l'U-V qui laisserait supposer le passage d'un chromophore indolinique à un

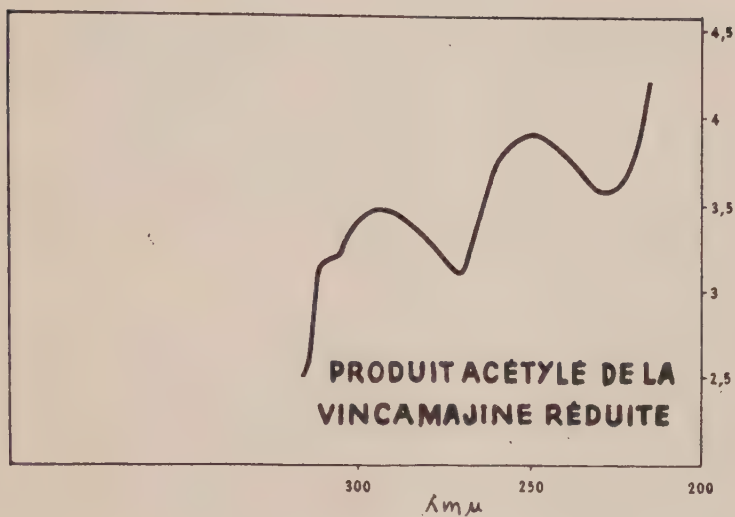


Fig. I

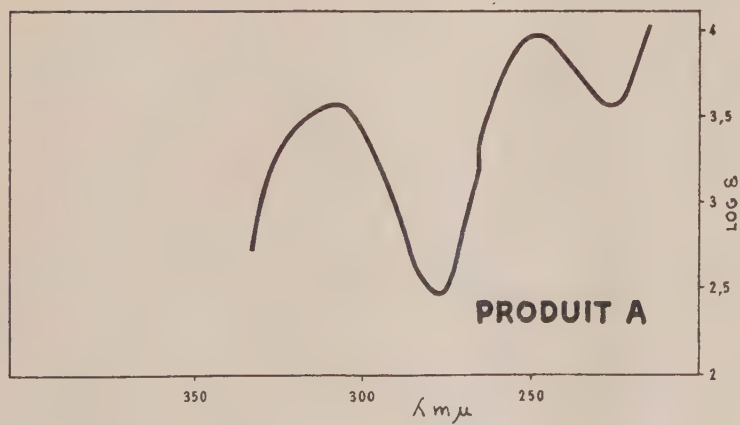


Fig. VII

chromophore méthoxy-5 indolinique

Le produit B de saponification (F 3572) présente un caractère amphotère. Isolé en faible quantité, il n'a pu être analysé, mais son spectre IR (fig. IX) est superposable avec celui de l'acide vincamédique $C_{21}H_{24}O_3N_2$, l'un des produits résultant de la saponification alcaline de la vincamédine (voir Vinca difformis : étude de la vincamédine).

Pensant que cet acide serait susceptible de se décarboxyler en milieu acide, nous l'avons chauffé au sein d'une solution d'acide chlorhydrique 2 N, mais par alcalinisation de la solution refroidie et extraction par l'éther, nous n'avons pu isoler de produit basique.

2) Réduction par $LiAlH_4$:

Le produit de réduction par l'hydruure de lithium-aluminium de la vincamajine ne cristallise pas, mais il donne un dérivé mono-acétylé ($C_{23}H_{28}O_3N_2$) F : 199° parfaitement cristallisé. Son spectre UV (fig. X) est superposable à celui de la vincamajine. Son spectre IR (fig. XI) présente à $5,8\mu$ et à $8,1\mu$ des bandes CO esters qui prouvent que l'acétylation a bien porté sur une fonction alcool.

Ces considérations spectrales jointes à l'analyse du dérivé acétylé du produit de réduction montrent bien l'existence d'une fonction carbométhoxy dans la vincamajine.

La réaction pouvant s'écrire :

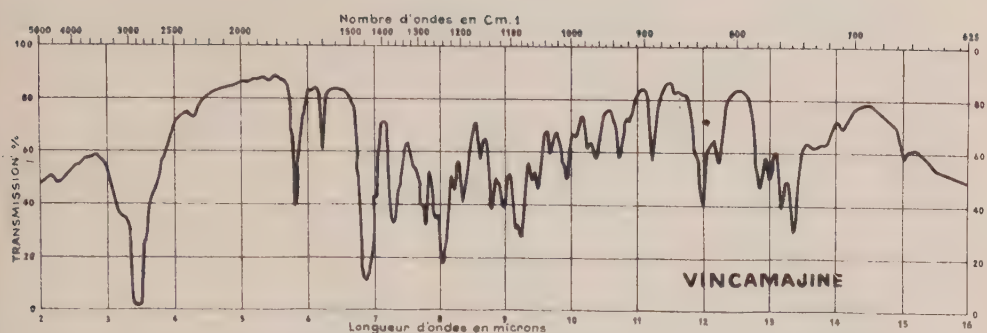


Fig. VI

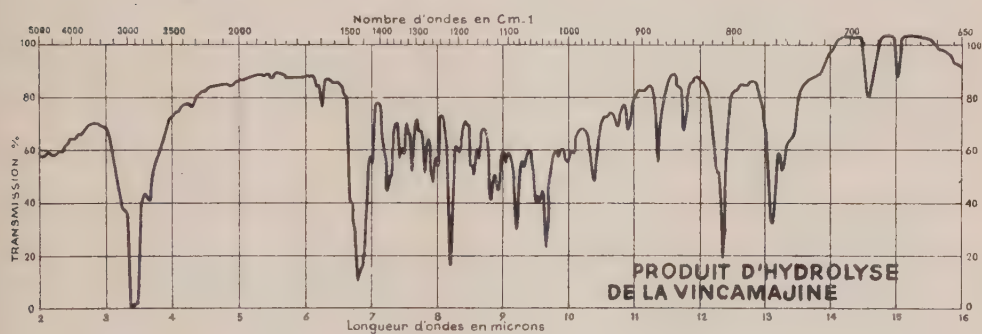


Fig. VIII

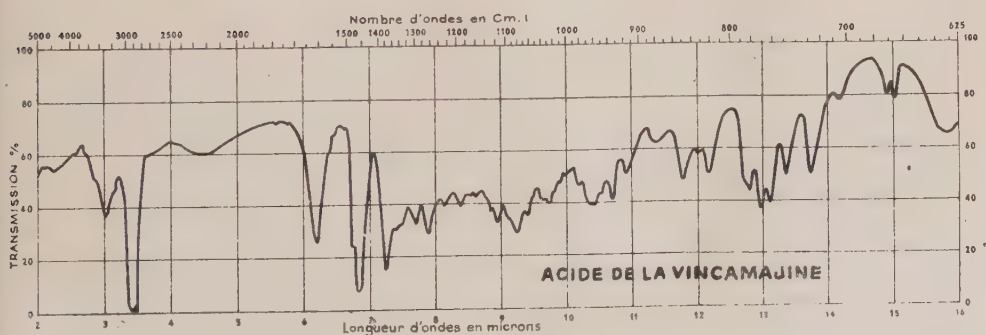
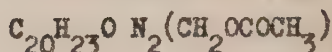
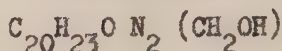
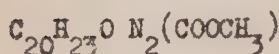
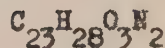
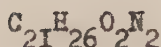
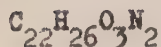


Fig. IX

VINCAMAJINEVINCAMAJINE REDUITEVINCAMAJINE REDUITE
ACETYLEE

Nous verrons plus loin (Vinca difformis : étude de la vincamédine) que la réduction par $LiAlH_4$ de la vincamédine fournit également un produit incristallisable dont le dérivé acétylé est identique à la vincamajine réduite acétylée ci-dessus décrite. Les relations entre la vincamajine et la vincamédine seront précisées lors de l'étude de ce dernier alcaloïde.

Conclusion

La vincamajine est un alcaloïde dihydro-indolique comportant une fonction ester méthylique et vraisemblablement une fonction alcool tertiaire.

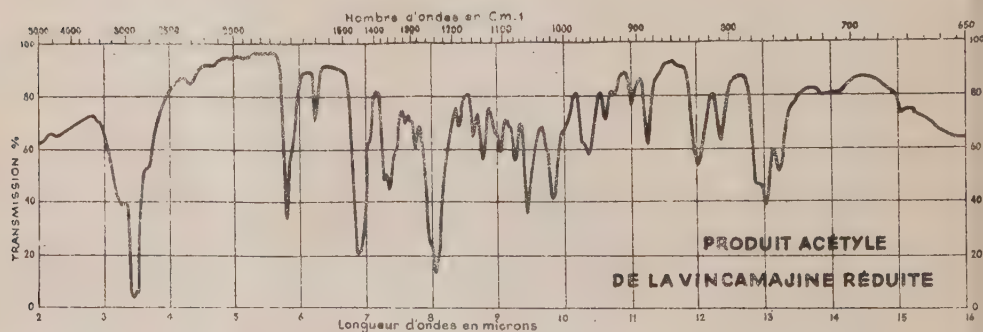


Fig. XI

3) ALCALOIDES DU VINCA DIFFORMIS

Extraction et séparation des alcaloïdes

Comme nous l'avions précisé plus haut, le Vinca difformis a été considéré par certains botanistes comme une simple variété morphologique de la grande pervenche : Vinca major. Aussi M.-M. Janot, J. Le Men et Y. Hammouda pensèrent-ils qu'il était intéressant de comparer la composition chimique de ces deux pervenches.

Dans une première publication (25), les auteurs précités relatent la découverte dans le Vinca difformis d'un alcaloïde paraissant nouveau, la vincamédine, sur la structure duquel nous reviendrons plus loin.

Dans une deuxième publication, M.-M. Janot, J. Le Men et C. Fan (24) précisent que si les feuilles du Vinca difformis renferment de la vincamédine, les tiges en sont presque dépourvues, mais elles renferment par contre deux alcaloïdes cristallisés, la sarpagine et un isomère de la vincamine.

TRAVAUX PERSONNELS

A partir d'un lot de 1 Kg 3 de feuilles du Vinca difformis reçu d'Espagne, nous avons extrait, par la technique des auteurs, 12 g,9 d'alcaloïdes totaux.

La chromatographie de ces alcaloïdes totaux a permis d'isoler par élution au benzène 2,1 g de vincamédine F : 186°. Par élution subséquente avec un mélange benzène-éther (9-1), nous avons isolé 280 mg de vincamajine, dont la présence dans le Vinca difformis n'avait pas été jusqu'ici signalée.

Enfin, par élution à l'éther, il est apparu un alcaloïde "X" cristallisé paraissant nouveau. Cet alcaloïde présente les constantes suivantes: $F\ 256^\circ$ $\alpha_D = +45^\circ$ ($c = 0,5$ dans l'alcool à 96°). Il semble répondre à la formule $C_{19}H_{24}O_2N_2$ et comporte un groupement méthoxyle et un ou peut-être deux atomes d'hydrogènes mobiles.

Le spectre U V (fig. XIII) comporte deux maximums à $\lambda_m \mu\ 225$; $\log \varepsilon$: 4,54 et $\lambda_m \mu$: 280; $\log \varepsilon$: 3,88 et correspond à un chromophore indolique typique.

Le spectre IR (fig. XII) comporte à $3,1$ et $3,3 \mu$ des bandes OH ou NH et à $5,87 \mu$ une bande (CO) ester conjugué.

La faible quantité de cet alcaloïde dont nous disposions, ne nous a pas permis de pousser plus loin nos investigations.

Les connaissances actuelles sur la teneur en alcaloïdes de Vinca difformis peuvent être ainsi résumées :

feuilles :	alcaloïdes totaux :	1 % environ
	vincamédine :	0,1 à 0,2 %
	vincamajine :	0,025 %
	alcaloïde X :	0,03 %

tiges :	alcaloïdes totaux :	0,6 %
	vincamédine :	traces
	sarpagine :	0,009 %
	vincamine :	0,003 %

Il est assez exceptionnel de trouver des différences de composition chimique aussi marquées entre les feuilles et les tiges surtout dans le cas d'une plante herbacée.

Etude de la Vincamédine

La Vincamédine présente les constantes suivantes : F 186° (bloc) ou (tube capillaire), $[\alpha]_D^{20} - 66^\circ \pm 2^\circ$ (c = 0,52 chloroforme) ; répond à la formule : $C_{24}H_{28}O_4N_2$ et comporte un groupement OCH_3 et un groupement $N-CH_3$ mais pas d'hydrogène mobile.

Son spectre U V présente deux maximums : $\lambda_m \mu$: 250 ; log ϵ : 3,92 et $\lambda_m \mu$: 295 ; log ϵ : 3,45 et correspond à l'absorption d'un chromophore indolinique typique.

Son spectre IR (fig. XIV) montre deux bandes à 5,78 et 5,9 μ dans la région d'absorption du groupe $C=O$, une bande d'insaturation à 6,2 μ ainsi que de nombreuses bandes intenses dans la région de 12 à 14 μ se rapportant au noyau aromatique substitué.

L'ensemble de ces résultats acquis par M.-M. Janot, J. Le Men et Y. Hammouda permettait aux auteurs de rattacher la vincamédine aux nombreux alcaloïdes dihydro-indoliques déjà isolés de diverses Apocynacées des genres : Rauwolfia, Picralima, Amsonia, Kopsia et même Vinca, ainsi que de plusieurs Loganiacées du genre Strychnos.

Notre premier travail fut d'étudier le dosage des groupements $C-CH_3$ pouvant être présents dans la vincamédine. La méthode classique de Kuhn-Roth révèle l'existence de 2 groupements $C-CH_3$. Et par la méthode de Kuhn-Roth modifiée par Bickel, Schmid et Karrer (3), puis par Percheron et Goutarel (39), nous avons pu reconnaître l'absence de groupement $C-CH_2CH_3$, puisqu'aucune tache d'acide propionique n'est révélée par chromatographie sur papier.

La vincamédine comporte donc deux groupements C-méthyl et pas de groupement C-éthyl.

Au contact d'un catalyseur à base de platine préparé selon Adam, la vincamédine absorbe lentement une quantité d'hydrogène correspondant sensiblement à deux doubles liaisons. Le produit d'hydrogénation n'a pu être cristallisé, mais son spectre IR (fig. XV) semble montrer à $6,2\mu$, c'est-à-dire dans la région d'absorption des liaisons $C=C$ une bande d'absorption moins intense que celle relevée au même endroit dans le spectre IR de la vincamédine.

L'existence dans le spectre IR de la vincamédine d'une double bande $C=O$ à $5,8$ et $5,9\mu$ ainsi qu'une large bande entre 8 et $8,2\mu$ laissent supposer la présence d'une ou plusieurs fonctions esters que nous nous sommes attachée à étudier à l'aide de trois réactions :

- a) la réduction par l'hydrure de lithium-aluminium
- b) l'hydrolyse alcaline
- c) l'hydrolyse acide.

a) Réduction de la vincamédine par $LiAlH_4$ —

La vincamédine en solution dans un mélange tétrahydrofurane éther réagit vivement avec $LiAlH_4$. Malheureusement le produit de réduction ne cristallise pas.

Son spectre U V (Fig. XVI) présente deux maximums : $\lambda_{\text{max}} 250$; $\log \epsilon$ 3,98 et $\lambda_{\text{max}} 295$; $\log \epsilon$ 3,47. Il est superposable à celui de la vincamédine et montre ainsi que le chromophore indolique n'a pas été modifié.

Son spectre IR (fig. XVII) assez peu précis, dénote cependant l'

Fig. XIII

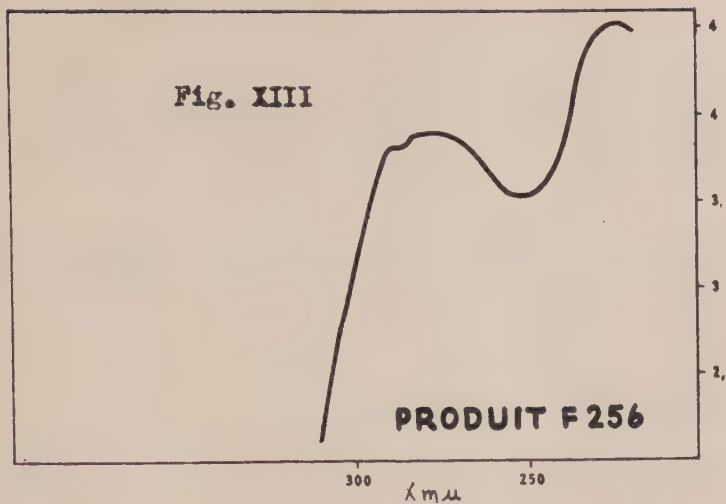


Fig. XVI

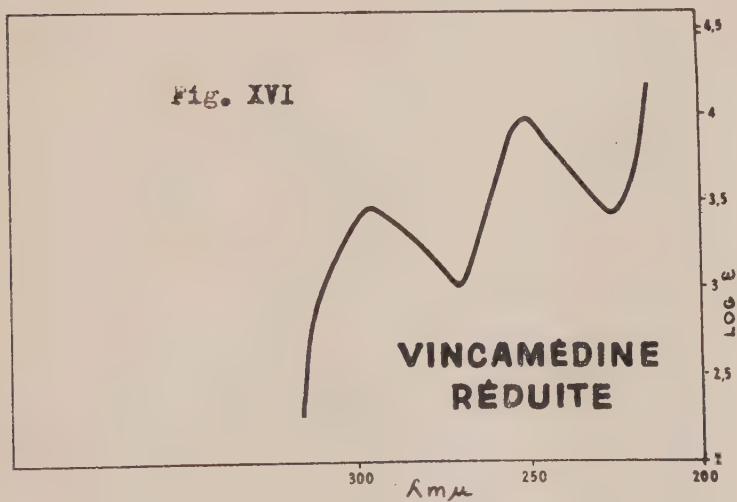
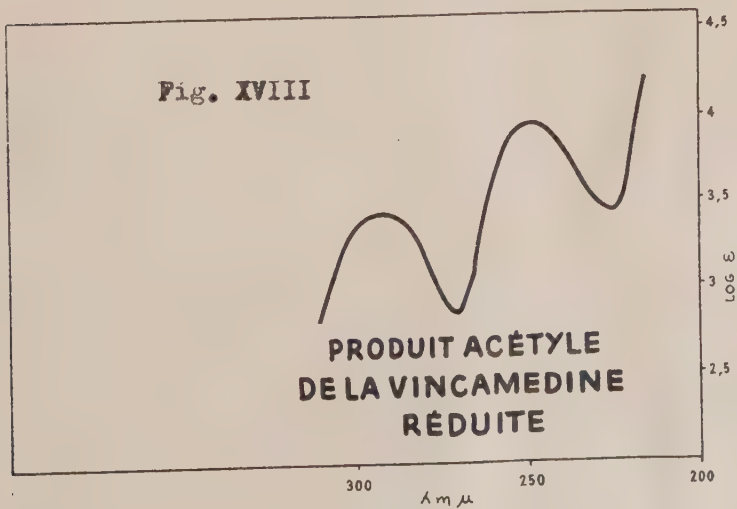


Fig. XVIII



absence presque totale d'absorption dans la région $5,8\mu$ ainsi qu'une absorption faible entre 8 et $8,2\mu$. La, ou les fonctions esters ont donc bien disparu lors de la réaction.

Le produit réduit, purifié par distillation sous vide, fournit par action de l'anhydride acétique un dérivé monoacétylé, cristallisé F : 202° répondant à la formule brute : $C_{23}H_{28}O_3N_2$.

Son spectre U.V (fig. XVIII) : maximums $\lambda_{m\mu}$ 250 ; Log ϵ : 3,95 et $\lambda_{m\mu}$: 295 ; log ϵ : 3,44, est, cette fois encore, identique à celui de la vincamédine. Quant à son spectre IR, il comporte une seule bande ester d'alcool à $5,78\mu$ et une bande à $8,1\mu$. L'acétylation a donc porté sur un OH alcoolique. (Fig. XIX)

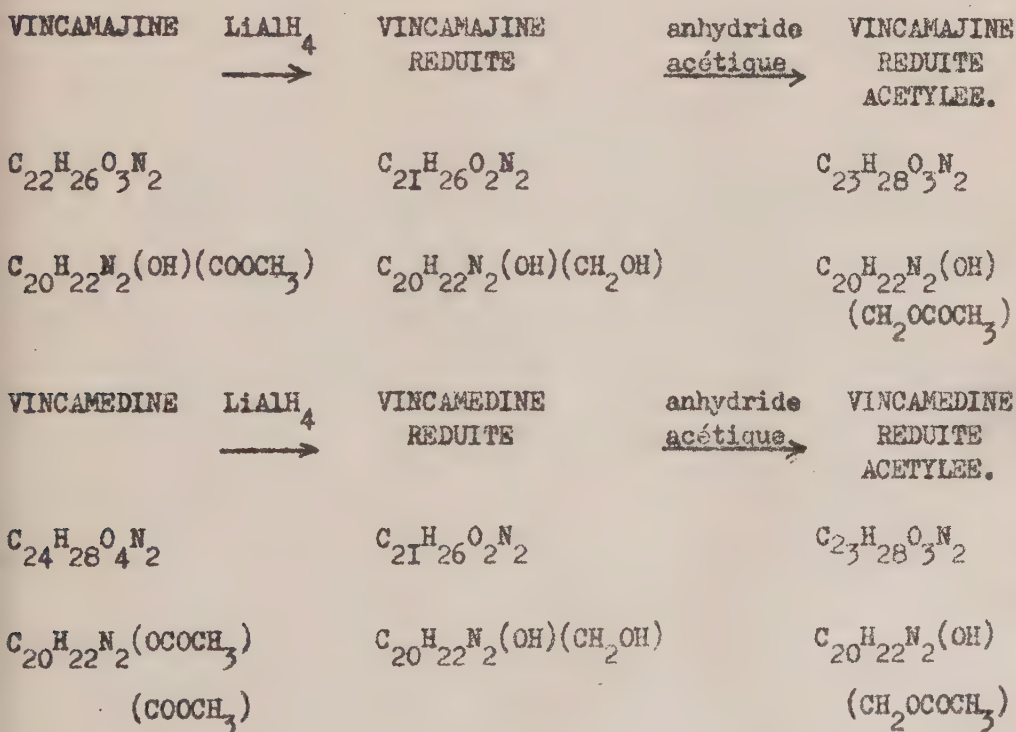
Ce dérivé présente la même formule brute et le même point de fusion que le dérivé acétylé de la vincamajine réduite par $LiAlH_4$. L'identité de ces deux produits est confirmée aussi par la superposition rigoureuse de leurs spectres IR.

Il est donc à prévoir que dans les deux cas, la fonction carbométhoxyle a été réduite et que c'est la fonction alcool primaire résultante qui seule a été ultérieurement acétylée.

Si l'on compare les formules brutes de la vincamajine $C_{22}H_{26}O_3N_2$ et de la vincamédine $C_{24}H_{28}O_4N_2$, on voit qu'elles diffèrent

seulement par le groupement ($\text{CH}_2\text{-CO}$), ou en d'autres termes, que la vincamédine apparaît comme une acétyl vincamajine. Cette Hypothèse est renforcée par le fait que le spectre IR de la vincamédine comporte deux bandes ester à $5,78$ et $5,9\mu$ alors que celui de la vincamajine comporte une seule bande à $5,8\mu$.

Suivant cette hypothèse, les réactions de réduction et d'acétylation successives de la vincamajine et de la vincamédine peuvent dès lors être schématisées de la façon suivante :



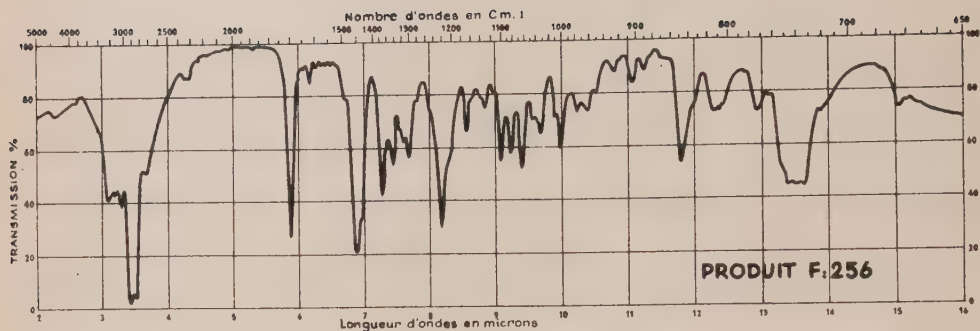


Fig. XII

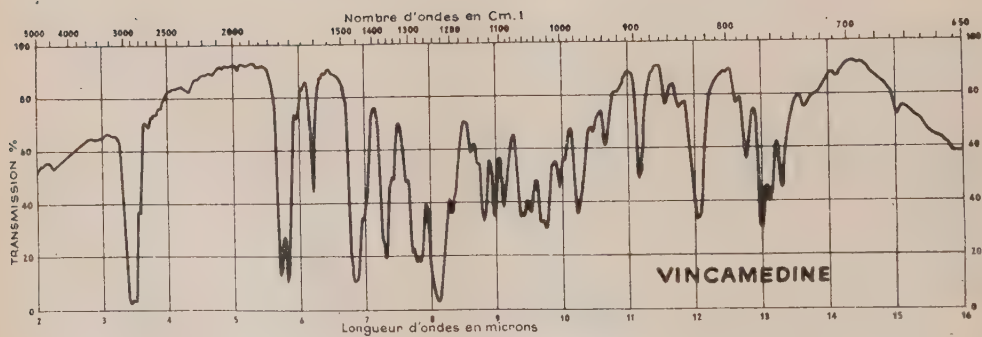


Fig. XIV

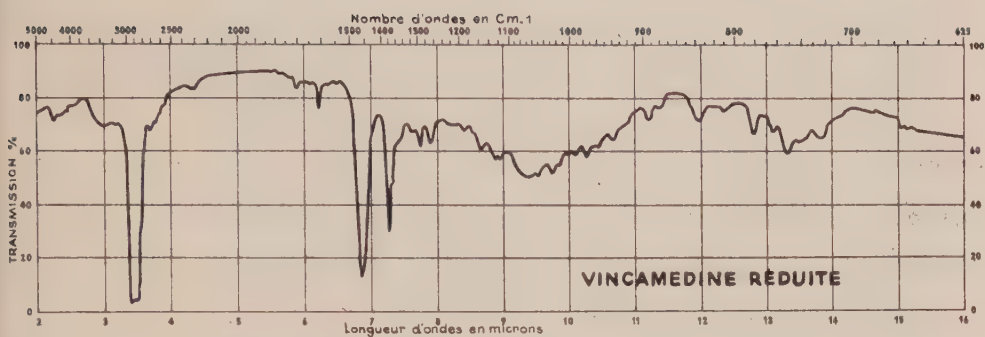


Fig. XVII

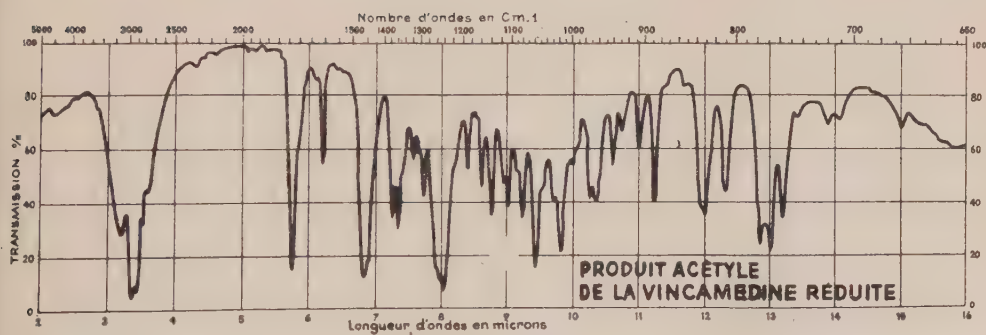


Fig. XIX

Pour tenter de montrer que la vincamédine est effectivement un simple dérivé acétylé de la vincamajine, on pouvait songer à acétyler ce dernier alcaloïde ; mais comme nous l'avons dit plus haut , cette acétylation n'a pu être réalisée et nous avons supposé que la fonction OH de la vincamajine est un alcool tertiaire.

Signalons au passage qu'il ne faut point s'étonner dès lors de voir la vincamédine réduite de même que la vincamajine réduite donner un simple dérivé monoacétylé.

Comme la voie synthétique ne nous permettait pas de passer de la vincamajine à la vincamédine, il apparaissait normal de tenter par voie dégradative, d'obtenir une nouvelle fois un dérivé commun. C'est ce que nous avons cherché à réaliser par l'étude des réactions d'hydrolyse en milieu basique et acide que nous allons maintenant aborder.

b) Hydrolyse basique de la vincamédine

La saponification de la vincamédine a tout d'abord été conduite comme un dosage. Dans un premier temps, l'hydrolyse a été effectuée par de la potasse en tube scellé, puis dans un deuxième temps, après acidification du milieu par l'acide phosphorique, les acides volatils ont été distillés puis titrés. Cette acidité volatile exprimée en $(\text{CH}_3\text{CO})\%$ a été trouvée égale à 11,2 pour 10,5 % calculé.

La présence d'un groupement ester acétique dans la vincamédine est donc probable comme nous l'avons posé en hypothèse.

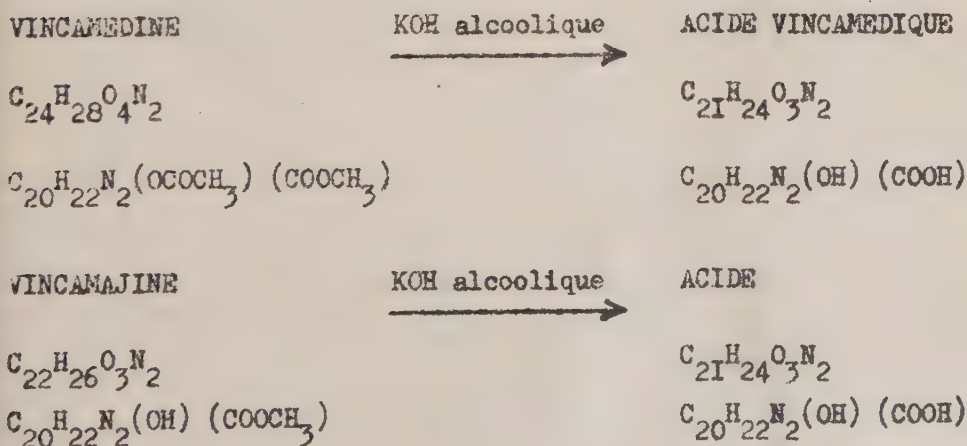
Nous avons ensuite effectué une saponification en vue de recueillir les produits non volatils formés ; nous avons ainsi isolé deux composés A et B.

Le COMPOSE A est un corps amphotère, cristallisé F : 357°, ré-
pondant à la formule $C_{21}H_{24}O_3N_2$. L'analyse fonctionnelle montre
la présence d'un $N-CH_3$, un $C-CH_3$ et deux H^+ , mais l'absence d e
groupement OCH_3 .

Son spectre U V présente deux maximums : $\lambda_{m\mu}$ 250 ; $\log \varepsilon$:
3,90 et $\lambda_{m\mu}$: 294 ; $\log \varepsilon$ 3,48. Il est superposable au spectre
U V de la vincamédine. Son spectre IR (fig. XX) présente une forte
absorption à $3,1\mu$ (OH associé) et une bande intense à $6,2\mu$ ca-
ractéristique du carboxyle.

Nous désignerons désormais ce composé A par le terme d' acide
vincamédique. Cet acide vincamédique présente les mêmes constantes
physiques que l'acide isolé lors de la saponification de la vinca-
majine, et l'identité de ces deux substances est prouvée par l a
superposition de leurs spectres IR.

Ainsi, nous aboutissons une nouvelle fois, par dégradati o n
parallèle de la vincamédine d'une part et de la vincamajine d' au-
tre part, au même dérivé, comme nous l'avions souhaité. Les réac-
tions de saponification peuvent être schématisées de la façon sui-
vante :



A partir de cet acide vincamédique, il était tentant de songer à repasser à la vincamajine par simple méthylation de la fonction acide. Nous avons essayé d'estérifier cet acide vincamédique, soit par l'alcool méthylique en milieu acide, soit par le diazométhane. Nous avons malheureusement échoué dans ces essais, pratiqués sur une dizaine de milligrammes seulement à chaque fois. Peut-être aurions nous réussi si nous avions multiplié les essais en faisant varier les conditions opératoires.

Le COMPOSE B : F 210², également cristallisé, obtenu lors de la saponification, se comporte comme une base organique déplaçable par l'ammoniaque et extractible par l'éther. Il retient énergiquement les solvants et il a été impossible de l'obtenir sans trace de résidu minéral.

De l'analyse, deux formules probables en résultent : $C_{22}H_{28}O_3N_2$ ou $C_{22}H_{26}O_3N_2$. Un groupement (OCH_3) est dosable par la méthode de Zeisel.

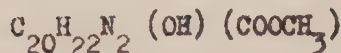
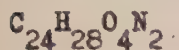
Le spectre U.V de ce produit B avec ses deux maximums à $\lambda_{m\mu}$ 250 ; $\log \epsilon$: 3,87 et $\lambda_{m\mu}$ 295 ; $\log \epsilon$: 3,48 est superposable à celui de la vincamédine.

Son spectre IR (fig. XXI) ne comporte plus qu'une seule bande ester à $5,82\mu$. Il apparaît, de plus, presque identique à celui de la vincamajine (voir fig. VI page 27 bis).

L'obtention de ce produit B s'interprète très bien d'après les formules brutes si l'on admet qu'il résulte de la simple hydrolyse de la fonction ester acétique avec conservation de la fonction carbométhoxyle (un OCH_3 dosable) de la vincamédine.

VINCAMÉDINE

PRODUIT B



Cette résistance à l'hydrolyse de la fonction carbométhoxyle n'est pas exceptionnelle. Sir Robert Robinson et Aghoramurthy (1) signalent en effet que la fonction $(COOCH_3)$ de la pseudo-akuammigine n'est pas hydrolysée, même après sept heures d'ébullition dans la potasse alcoolique à 10 %.

En dépit de très grandes analogies entre le composé B et la vincamajine, nous n'avons pu conclure de façon absolue à leur identité.

En effet, lors de la saponification de la vincamajine, nous avons obtenu à côté de l'acide vincamédique une substance anormale qui s'est trouvée identique à la vincamajoréine.

Or, dans le cas de la saponification de la vincamédine, la formation de la vincamajoréine n'a pas pu être mise en évidence.

Néanmoins la formation inattendue, mais très instructive, du composé B lors de la saponification de la vincamédine nous conduisit naturellement à opérer une hydrolyse acide de la vincamédine au sein de l'alcool méthylique. Nous devons cette fois avoir de fortes chances de retomber sur la vincamajine.

c) Hydrolyse acide de la vincamédine

Cette hydrolyse, conduite à chaud au sein de l'alcool méthylique et en courant d'acide chlorhydrique gazeux, nous a permis d'

isoler un produit unique, cristallisé, fondant à 228° (vincamajine 225°). Son spectre U V est identique à celui de la vincamédine de départ et à celui de la vincamajine. Son spectre IR (fig. XXII) comporte une seule bande ester à $5,78\mu$. Ce spectre IR, tout en étant très voisin de celui de la vincamajine, ne lui est cependant pas rigoureusement superposable. De plus, l'analyse de ce dérivé d'hydrolyse de la vincamédine est aberrante et ne correspond pas, même de façon approchée, à la formule de la vincamajine $C_{22}H_{26}O_3N_2$. Peut être s'agit-il d'un mélange que nous n'avons pu purifier davantage faute de matière première.

Il aurait été très instructif sans doute aussi d'étudier les réactions de déshydratation. Nous espérons reprendre cet intéressant problème des relations entre vincamédine-vincamajine et même vincamajoréine dès que nous aurons pu nous procurer une quantité suffisante de matière première.

CONCLUSION

De l'étude des réactions envisagées, il semble raisonnable de conclure que la vincamédine est un alcaloïde dihydroindolique porteur d'une fonction carbométhoxyle ($COOCH_3$) et d'une fonction ester acétique ($O-CO-CH_3$).

La vincamédine d'une part et la vincamajine d'autre part fournissent :

- 1) par réduction par $LiAlH_4$ et acétylation du produit résultant, le même dérivé.
- 2) par saponification alcaline un même acide à côté de produits divers.

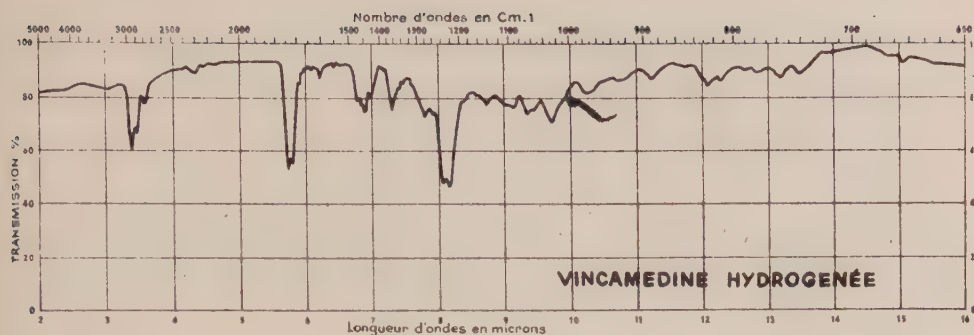


Fig. IV

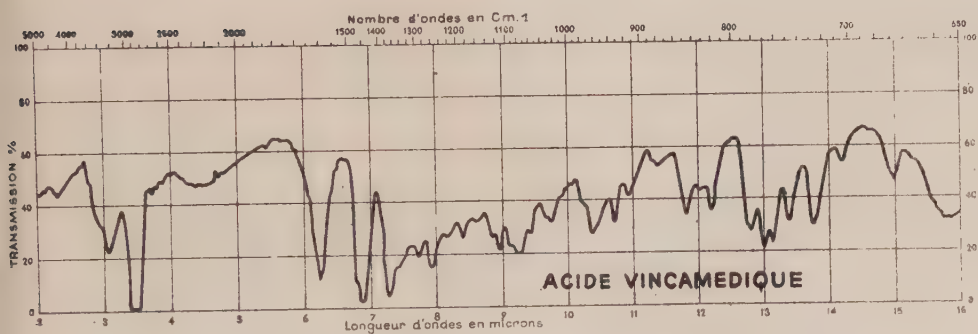


Fig. XI

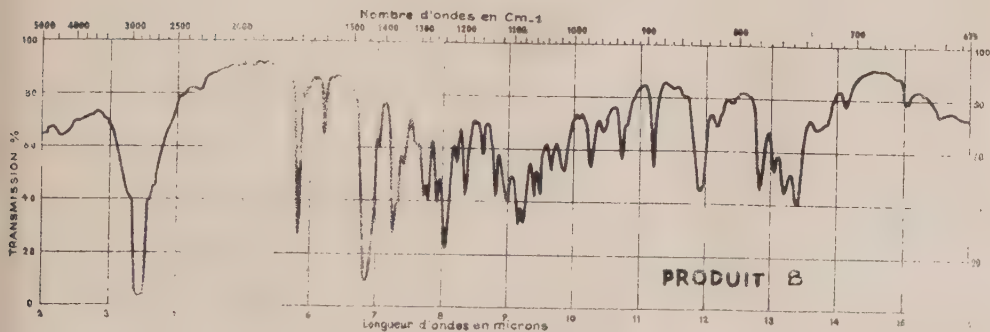


Fig. XII

Ces résultats , joints à la considération des formules brutes de la vincamédine et de la vincamajine, tendent à montrer que la vincamédine est une O-acétyl vincamajine.

Cependant certains résultats aberrants nous empêchent de présenter une telle relation entre ces deux alcaloïdes comme conclusion définitive.

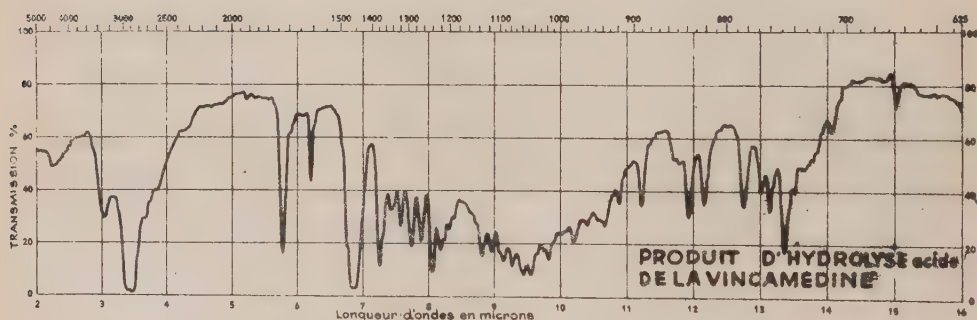


Fig. XXII

4) ALCALOIDES DU VINCA PUBESCENS

Nous avons vu dans la première partie que pour certains botanistes systématiciens, le Vinca pubescens devrait être considéré du point de vue morphologique comme une simple variété du Vinca major.

Dès l'année 1934, les chimistes A. Orechhoff, H. Gurevitch et S. Norkina (35) ont extrait de cette espèce trois alcaloïdes cristallisés : la vinine $C_{19}H_{26}O_4N_2F$ 211°, la pubescine $C_{20}H_{26}O_4N_2F$ 227° et un troisième alcaloïde de formule inconnue, fusible à 194°.

Mais aucun de ces alcaloïdes n'est identique à l'un quelconque des quatre alcaloïdes cristallisés isolés par M.-M. Janot et J. Le Men du Vinca major (16) (18) (19) (20).

Les différences biochimiques ainsi relevées viennent légitimer en quelque sorte la création de l'espèce Vinca pubescens distincte du Vinca major et pourraient éventuellement constituer un utile élément supplémentaire de diagnose puisque les différences morphologiques entre ces deux espèces apparaissent parfois peu marquées.

5) ALCALOIDES DES AUTRES ESPACES DE VINCA

VINCA HERBACEA

Dès 1932, Vintilesco et Ioanid (59) avaient signalé la présence d'alcaloïdes chez cette espèce ; plus récemment Zlonitskaya (64) effectuant une recherche systématique d'alcaloïdes chez les plantes arméniennes, confirme cette conclusion, mais aucune base ne semble avoir été isolée de cette pervenche.

VINCA ERECTA

En 1956, Yunusov, Yuldashev et Plekhanova (61) signalent, dans les parties aériennes de cette plante, la présence de deux alcaloïdes la vinkanine et la minorine à laquelle ils ont donné provisoirement la formule $C_{22}H_{28}O_3N_2$.

En 1957, ces mêmes auteurs (63) extraient, toujours des racines : la vincanine la vinkanidine et la réserpinine. Puis la même année (64) ils mettent en évidence deux autres alcaloïdes, l'un extrait des racines : la vinkanine $C_{19}H_{22}O_3N_2$, et l'autre des parties aériennes. Ce dernier alcaloïde $C_{22}H_{26}O_3N_2$ $F : 224-225^\circ$, présente la même formule que la minorine précédemment citée, mais par ses constantes physiques, se rapproche de la vincamajine : $F 225^\circ$.

6) ALCALOIDES DU CATHARANTHUS ROSEUS

Sans doute parce qu'elle est l'espèce la plus commune et la plus disséminée sur les divers continents, le Catharanthus roseus est, de toutes les pervenches tropicales, celle qui a donné lieu au plus grand nombre de recherches chimiques.

Pour ne mentionner que les travaux récents, nous citerons les suivants : En 1953, R. Paris et H. Moyse-Mignon (37) isolent à partir des différentes parties de ce végétal et notamment des racines, un alcaloïde cristallisé présentant les réactions des dérivés indoliques et pour lequel le nom de vincéine est proposé : $C_{21}H_{26}O_3N_2$, F 259-260°, $[\alpha]_D^{20} = -56^\circ$; chlorhydrate F : 290°.

En 1955, Chatterjee et S.K. Talapatra (4) isolent un alcaloïde cristallisé F 252°, chlorhydrate F 290°, auquel ils attribuent le nom de vincaine. La vincaine répond à la formule $C_{21}H_{24}O_3N_2$ et donne par déshydrogénation au sélénium, de l'alstyrine. Les auteurs concluent d'après ces résultats et après examen des spectres U V et IR que la vincaine est : soit identique à l'ajmalicine, c'est-à-dire à la yohimbine, soit qu'elle constitue un stéréoisomère de cet alcaloïde.

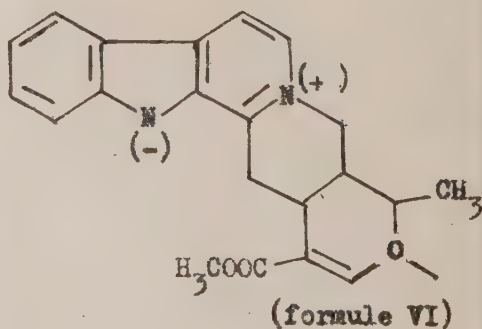
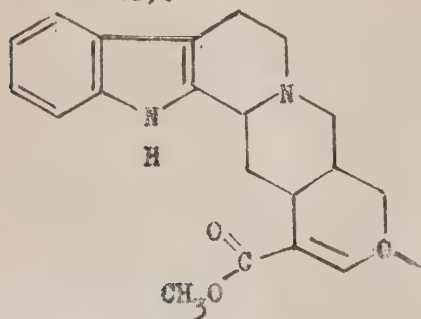
En 1956, W.B. Mors, P. Zaltman, J.J. Beerlboom, S.C. Pakrashi

Le nom de vincéine avait antérieurement été attribué par Kunkel (Handbuch Toxicologie. Iena 1901, p. 918) à un hétéroside du groupe des saponines, extrait de la petite pervenche.

et C. Djerassi (34), travaillant sur une variété blanche de l'espèce précitée, réussissent à isoler par contre-courant trois alcaloïdes cristallisés : l'ajmalicine (ou δ yohimbine), la serpentine, et une troisième base paraissant nouvelle : la lochnérine. Simultanément, en 1956, M. -M. Janot et J. Le Men (22) isolent aussi par chromatographie des bases totales des racines, trois alcaloïdes cristallisés : l'ajmalicine, l'akuammine, ainsi qu'un troisième alcaloïde (alcaloïde C des auteurs) qui s'avère identique à la lochnérine très récemment décrite par Djerassi et ses collaborateurs.

La comparaison des données publiées pour la vincéine et la vincaine, semble nettement indiquer que ces deux alcaloïdes doivent être considérés comme identiques. Enfin, les caractères physico-chimiques de ces deux alcaloïdes correspondent à ceux de l'ajmalicine et comme, de plus, l'ajmalicine a été trouvée par d'autres auteurs dans le Catharanthus roseus, tout porte à croire que vincéine et vincaine sont identiques à l'ajmalicine ou δ yohimbine.

Ainsi donc, le Catharanthus roseus renferme au moins quatre alcaloïdes cristallisés : l'ajmalicine (formule V), l'akuammine, la lochnérine, ainsi qu'une base ammonium quaternaire : la serpentine (formule VI).

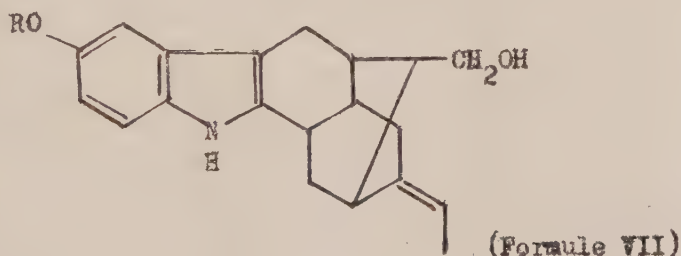


En faisant varier les conditions d'extraction et de fractionnement des alcaloïdes totaux, nous avons tenté, mais sans succès, d'isoler d'autres bases cristallisées.

Nous indiquerons dans la partie expérimentale les techniques d'isolement des alcaloïdes cristallisés de cette pervenche.

De ces alcaloïdes, un seul possédait une structure indéterminée : la lochnérine.

Mais, presque simultanément au début de l'année 1957, quatre équipes de chercheurs travaillant isolément (2) (56) (54) (45), montrent que la lochnérine est une O-méthyl sarpagine et proposent la même structure (VII).

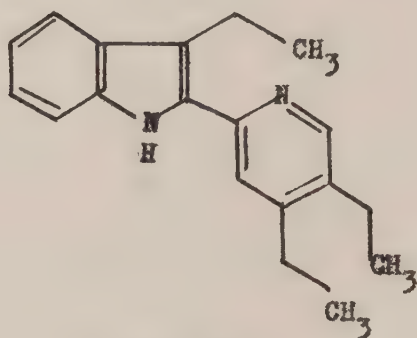


Sarpagine $R = H$

lochnerine $R = CH_3$

La nature et la position des groupements oxygénés, suggérées par l'étude des spectres U V et IR de ces alcaloïdes, sont abondamment prouvées par des réactions successives de méthylation, d'acétylation et de désacétylation. L'existence d'une chaîne éthyliène est démontrée par l'étude de l'hydrogénation et les dosages des groupements $(C) - CH_3$ et $(C) - CH_2 - CH_3$ selon Kuhn-Roth avant et après hydrogénation.

La preuve la plus démonstrative de l'enchaînement cyclique proposé réside dans l'isolement, par déshydrogénation au sélénium de la lochnérine, d'un composé ayant un spectre U V superposable à celui de l'ariline (VIII).



(formule VII)

7) ALCALOIDES DU CATHARANTHUS LANCEUS

Le Catharanthus lanceus ne paraît pas avoir retenu l'attention des chimistes avant l'année 1954 durant laquelle M.-M. Janot et J. Le Men (17) signalent avoir extrait des racines de cette plante l'ajmalicine (ou yohimbine). Deux ans plus tard, ces mêmes auteurs en collaboration avec Y. Hammouda (26) montrent que le Catharanthus lanceus renferme un deuxième alcaloïde cristallisé : la yohimbine (ou quebrachine).

L'ensemble de ces alcaloïdes ne représentant qu'un dixième environ du poids des bases totales, nous nous sommes efforcée d'en séparer d'autres principes cristallisés.

TRAVAUX PERSONNELS

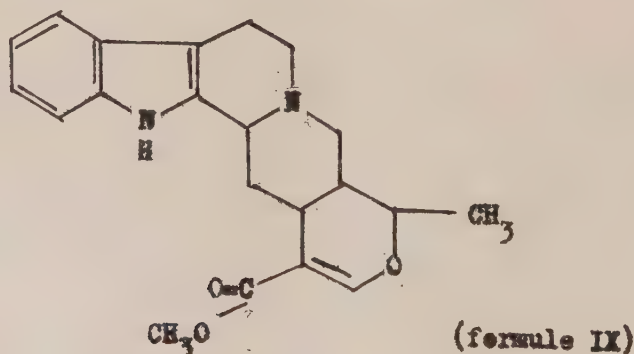
Par les techniques de chromatographie et de cristallisations fractionnées, nous avons pu isoler un alcaloïde cristallisé qui apparaît nouveau et pour lequel le nom de "lancéine" est proposé. Son étude sera présentée ci-dessous.

Utilisant la propriété de certains alcaloïdes de faible basicité de pouvoir être extraits directement par le chloroforme à partir de leur solution aqueuse chlorhydrique, nous avons effectué cette bipartition sur des bases déjà purifiées par chromatographie. Les bases, ayant passé dans la phase chloroformique, ont fourni après recristallisation dans le méthanol, un alcaloïde cristallisé présentant les constantes suivantes : F_{231}^{12} ; $[\alpha]_D^{20} - 96 \pm 4^\circ$ (c = 0,5 pyridine) ; formule brute : $C_{21}H_{24}O_3N_2$.

Le spectre U V de cet alcaloïde (fig. XXIII) présente deux maximums : $\lambda_{m\mu}$ 225 ; $\log \epsilon$ 4,62 et $\lambda_{m\mu}$ 280 ; $\log \epsilon$ 4,94 à un point d'inflexion dans la région $\lambda_{m\mu}$ 250 ; $\log \epsilon$ 4,10 ; ce spectre est en tout point comparable à celui de l'ajmalicine et correspond à la superposition du chromophore indolique ou chromophore RO-CO $\dot{C}$ -CH-OR (15).

La présence de cet enchainement est encore confirmée par l'existence de deux bandes d'absorption à 5,9 et 6,2 μ dans le spectre IR (fig. XXIV).

L'ensemble des caractères précédents oriente vers la tétrahydroalstonine et l'identité est prouvée par la superposition possible entre le spectre IR de l'alcaloïde que nous venons d'isoler et celui de la tétrahydroalstonine (IX)



Ainsi donc le Catharanthus lanceus renferme deux alcaloïdes isomères : C₂₁ H₂₄ O₃ N₂ du type yohimbique : l'ajmalicine et la tétrahydroalstonine.

Djerassi, S.C. Pakrashi (34) ayant montré que le Catharanthus roseus renferme de la serpentine, nous avons recherché la présentation de cet alcaloïde dans le Catharanthus lanceus. Cette



Fig. XXIII

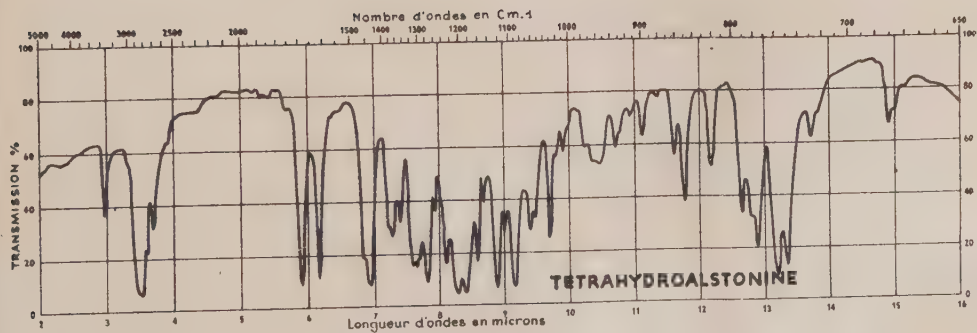


Fig. XXIV

espèce renferme effectivement des bases fortes du type ammonium quaternaire et colorées en jaune, mais aucun alcaloïde cristallisé n'a pu en être séparé.

Etude de la lancéine

La lancéine base cristallise du méthanol en prismes volumineux : F 198° ; $[\alpha]_D^{20} + 64^\circ \pm 4^\circ$ (c = 0,5 alcool) et $[\alpha]_D^{20} + 62^\circ \pm 4^\circ$ (c = 0,5 chloroforme).

De nombreuses combustions n'ont pu conduire à une formule pleinement satisfaisante, la plus probable étant cependant : $C_{20}H_{24}$ ou $26 O_3 N_2$. L'hypothèse d'une molécule doublée peut également être envisagée. L'analyse des cristaux aux rayons X laisse hésiter entre des poids moléculaires voisins de 350 ou 700.

Les analyses fonctionnelles semblent montrer l'existence dans la lancéine d'un groupement méthoxyle (OCH_3), d'un groupement $C-CH_3$ et de deux atomes d'hydrogène mobiles.

L'iodométhylate de lancéine se présente en prismes incolores fondant à 241°. Il apparaît comme un sel d'ammonium quaternaire. Le chlorhydrate de lancéine, difficile à obtenir, cristallise en aiguilles blanches : F 274°. Les résultats de son analyse concordent assez bien avec la formule $C_{20}H_{24}$ ou $26 O_3 N_2 \cdot HCl$, ce qui est conforme au fait qu'un seul des atomes d'azote de la molécule est salifiable, comme c'est la règle pour les alcaloïdes indoliques blazotés.

Le spectre U V de la lancéine (fig. XXV) présente trois maximums $\lambda_{m\mu}$ 228 ; log ϵ : 4,02 , $\lambda_{m\mu}$ 300 ; log ϵ : 4,16 et $\lambda_{m\mu}$ 325 ; log ϵ : 4,20 (calculés pour PH 55°).

Plusieurs alcaloïdes possèdent un spectre U V de ce type et doivent présenter le même chromophore ; ce sont : l'akuammicine (12) $C_{19}H_{20}O_2N_2$ (Picralima), l'échitamidine (7) $C_{20}H_{26}O_2N_2$ (Alstonia) et la tabersonine $C_{20}H_{24}O_2N_2$ (Amsonia) (21).

Mais la lancéine se singularise des trois alcaloïdes précédents par son faible pouvoir rotatoire. La structure d'aucun de ces alcaloïdes n'est encore connue, mais ils semblent tous appartenir à la classe des alcaloïdes indoliques ou dihydro-indoliques.

Le spectre IR de la lancéine (fig. XXVI) présente deux bandes NH ou OH à 2,82 et 2,93 μ et une bande carbonyle à 6,05 μ . Cette dernière bande pourrait correspondre soit à un CO amide, soit à un CO carboxyle d'une fonction ester conjuguée à une double liaison.

En vue de tenter d'élucider la nature des groupements fonctionnels de la lancéine, nous avons préparé l'acétyl lancéine : F 194² mais, résultat inattendu, ce dérivé acétylé de la lancéine répond à la formule $C_{20}H_{24}O_4N_2$. Son spectre U V (fig. XXV) (courbe b) présente trois maximums : $\lambda_{m\mu}$: 228 ; $\log \epsilon$ 3,95 ; $\lambda_{m\mu}$: 300 , $\log \epsilon$ 4,03 et $\lambda_{m\mu}$ 325, $\log \epsilon$ 4,17, et est en tout point comparable à celui de la lancéine de départ. L'acétylation ne s'est donc pas faite sur le NH du noyau indolique ou indolinique.

Le spectre IR (fig. XXVIII) de la lancéine acétylée se différencie par contre nettement du spectre IR de la lancéine de départ par la disparition de l'une des bandes NH ou OH dans la région 3 μ et par l'apparition de bandes CO ester à 5,9 et à 8,4 μ . Ces deux dernières bandes montrent que l'acétylation a porté sur un OH et comme la lancéine n'est pas un alcaloïde phénolique, la

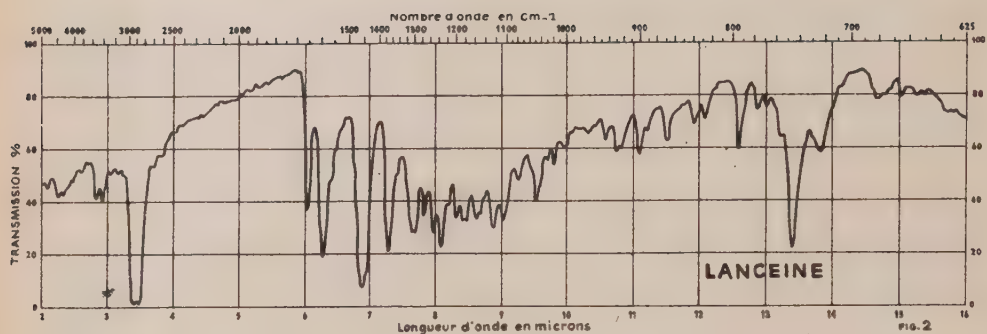


Fig. XXVI

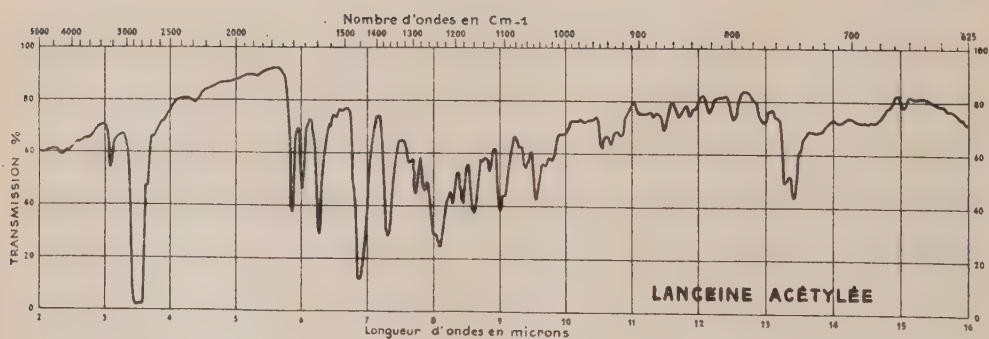


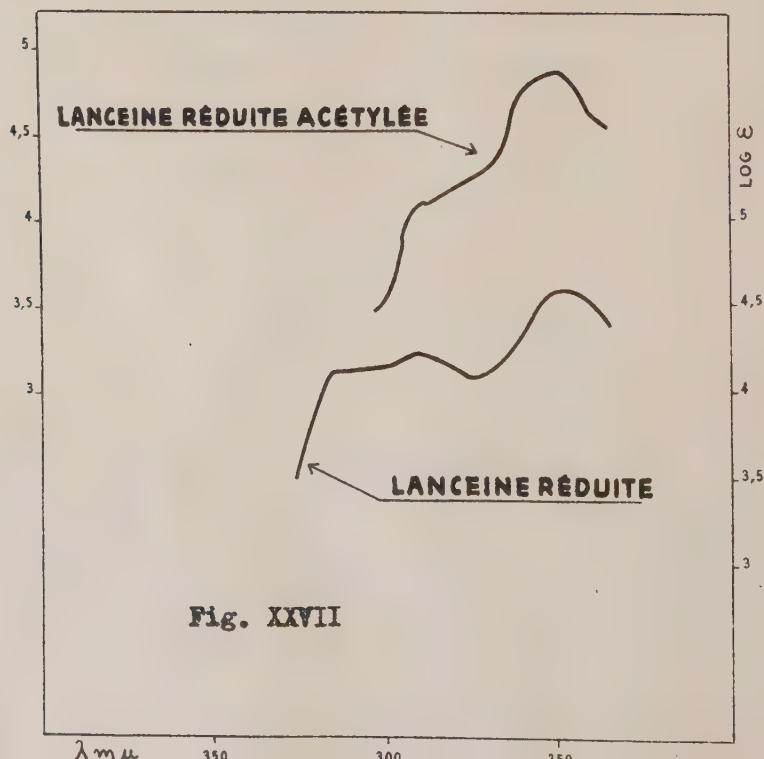
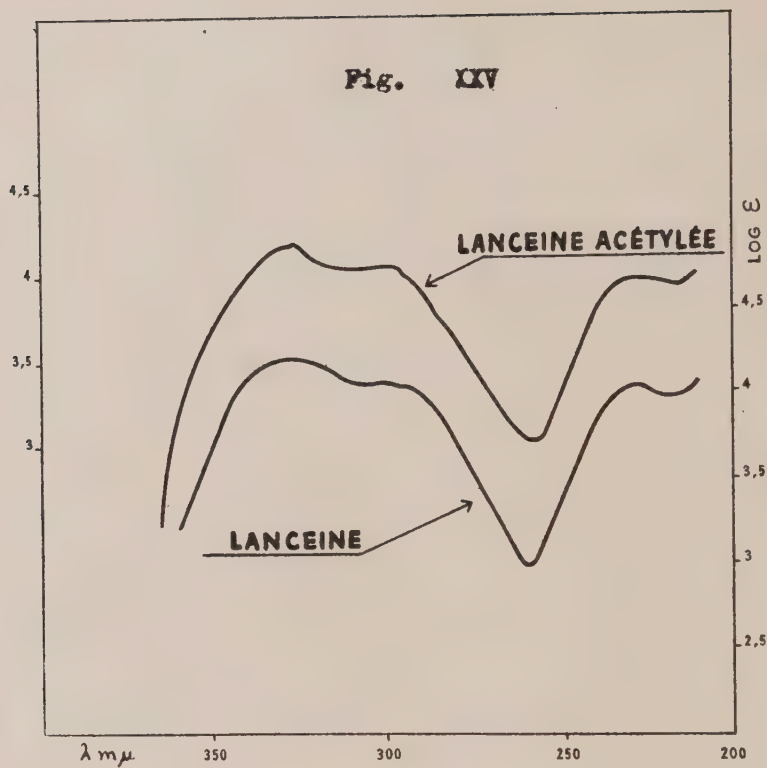
Fig. XXVIII

présence d'une fonction alcool primaire ou secondaire est probable. Pour poursuivre la détermination des groupements fonctionnels de la lancéine, nous avons réduit cet alcaloïde par l'hydruure de lithium-aluminium. Le produit de réduction résultant ne cristallise pas, mais son spectre U V (fig. XVII courbe I) présente seulement deux maximums : à $\lambda = \mu 250$, $\log \epsilon 4,58$ et à $\lambda = \mu 290$, $\log \epsilon 4,22$ (calculés pour PM 350) et correspond à l'absorption d'un chromophore indolinique, ce qui laisse prévoir que la réduction a porté sur le chromophore conjugué au bicyclic indolinique. La lancéine réduite a été acétylée, mais le produit réactionnel, lui non plus, ne cristallise pas ; son spectre U-V, (fig. XXVII courbe b), voisin de celui de la strychnine, correspond à un chromophore N-acétyl indolinique. Des faits semblables ont été observés par M.-M. Janot et J. Le Men avec la tabersonine, mais cette fois le produit de réduction et son dérivé acétylé cristallisent.

Les spectres U V de la tabersonine réduite et de son dérivé acétylé sont superposables à ceux de la lancéine réduite et de son dérivé acétylé.

L'analogie de comportement entre ces deux alcaloïdes est donc frappante.

Les formules brutes et les spectres IR de la tabersonine réduite et de son dérivé diacétylé montrent nettement l'existence chez l'alcaloïde primitif d'une fonction ester méthylique. On peut donc en déduire par analogie, l'existence probable dans la lancéine d'une fonction ester méthylique $\alpha \beta$ insaturée, comme le laissait prévoir le dosage du groupement méthoxyle et la bande à $6,03 \mu$ dans le spectre IR. Mais le fait que le produit de



réduction de la lancéine et son dérivé acétylé ne cristallisent pas, ne nous a pas permis d'affirmer plus certainement la précédente conclusion.

Conclusion

En dehors de l'ajmalicine et de la yohimbine précédemment isolés, les racines de Catharanthus lanceus renferment comme on a pu le montrer au moins deux autres alcaloïdes cristallisés : la tétrahydroalstonine et la lancéine.

Ce dernier alcaloïde paraît nouveau et présente de fortes analogies avec la tabersonine.

Nous avons décrit quelques caractères physico-chimiques de la lancéine et tenté d'élucider la nature de ses groupements fonctionnels.

8) ALCALOIDES DU CATHARANTHUS TRICHOPHYLLUS

Dans leur étude sur les pervenches de Madagascar, R. Pernet , G. Meyer, J.M. Bossier et G. Ratsiandavana (40) signalent avoir caractérisé la yohimbine par chromatographie sur papier des alcaloïdes totaux du Catharanthus trichophyllus.

Si nous n'avons pu nous procurer un échantillon de cette espèce en provenance de Madagascar, nous avons par contre reçu de la pépinière de Seredou (Guinée Française) un échantillon d'une pervenche désignée localement par le terme de "pervenche de Madagascar". Suivant l'avis de Monsieur Lalande qui a eu l'amabilité de nous adresser cet échantillon, il doit s'agir vraisemblablement du Catharanthus trichophyllus.

Cet échantillon était constitué uniquement par les parties aériennes de la plante. La longueur des tiges (1m,50 environ) et leur diamètre (15 mm à la base) semblent indiquer qu'il s'agit d'une forte plante herbacée présentant des poils sur les tiges et les feuilles ; les follicules longs de 18 mm en moyenne enferment 20 à 30 graines.

L'ensemble de ces caractères cadre assez bien avec ceux décrits pour le Catharanthus trichophyllus et confirme la diagnose de Monsieur Lalande.

L'analyse de cet échantillon suivant les techniques habituelles a montré la présence d'une teneur en alcaloïdes totaux de 0,5%. Par chromatographie de ces bases sur alumine, un seul produit cristallisé a été isolé ; il s'agit de l'ajmalicine (ou δ yohimbine). Nous n'avons pas retrouvé par contre la yohimbine (quebrachine) signalée par les auteurs précités.

B) PARTIE EXPERIMENTALE

En appendice à la Partie Chimique, nous croyons utile de rappeler, sous forme de tableau, la répartition des alcaloïdes présents dans les diverses espèces des pervenches.

TABEAU DES ALCALOÏDES CRISTALLISES ISOLES DES PERVENCHES (VINCA ET CATHARANTHUS)

ORIGINE BOTANIQUE

ALCALOÏDES ISOLES

Genre	Espèce	Nom	Température de fusion bloc tube	Pouvoir rotatoire	Formule	Réf.
VINCA	minor	VINCAMINE	231° 231°	+41° ±4° pyridine -13° ±2° chlorof.	$C_{21}H_{26}O_3N_2$	14
		ISOVINCAMINE	218°	+28° ±2° pyridine	$C_{21}H_{26}O_3N_2$	34
		PERIVINCINE	201° 202°		$C_{23}H_{26}O_3N_2$	51
		VINCAMIRINE	270° 214°	+33° ±4° pyridine - 7° ±2° chlorof.	$C_{21}H_{26}O_3N_2$	14

Genre	Espèce	Nom	Température de fusion bloc tube	Pouvoir rotatoire	Formule	Réf.
VINCA	major	RESERPINE	242° 242°	-131° chlorof. -109° 14° pyridine	$C_{22}H_{26}O_4N_2$	16
		AKUAMINE ou VINCAMAJORIDINE	315° 258°	-104° 4° pyridine	$C_{22}H_{26}O_4N_2$	23
		VINCAMAJINE	225° 225°	- 55° alcool	$C_{22}H_{26}O_3N_2$	19
		VINCAMAJOREINE	271° 246°		$C_{21}H_{26}O_2N_2$	24

Genre	Espèce	Nom	Température de fusion bloc tube	Pouvoir rotatoire	Formule	Réf.
VINCA	difformis	VINCAMEDINE	186° 186°	-66° +2°chlorof.	$C_{24}H_{28}O_4N_2$	25
		SARPAGINE	sup. à 320°	+54° pyridine	$C_{19}H_{22}O_3N_2$	24
		VINCAMIRINE	270° 214°	+33° +4° pyridine -7° +2°chlorof.	$C_{21}H_{26}O_3N_2$	14
		VINCAMAJINE	225° 225°	-55° (alcool à 95°)	$C_{22}H_{26}O_3N_2$	19
		ALCALOÏDE "X"	256°	+45° (alcool à 95°)	$C_{19}H_{26}O_3N_2$	-

Genre	Espèce	Nom	Température de fusion bloc tube	Pouvoir rotatoire	Formule	Réf.
VINCA	pubescens	VININE	211°		$C_{19}H_{26}O_4N_2$	35
		PUBESCINE	227°		$C_{20}H_{26}O_4N_2$	35
		3° alcaloïde	194°			35

Genre	Espèce	Nom	Température de fusion bloc tube	Pouvoir rotatoire	Formule	Réf.
CATHARANTHUS	roseus	ATMALICINE ou δ YOHIMBINE	261°	- 55° alcool 96°	$C_{21}H_{24}O_3N_2$	22
		AQUAMININE	315° 258°	-104° + 4°	$C_{22}H_{26}O_4N_2$	
		LOCHNERINE méthyl sarpagine	201°	+ 96° alcool 96°	$C_{20}H_{24}O_3N_2$	45
		SERPENTINE	156°	perchlorate +188° acétone	$C_{21}H_{20}O_3N_2$	34

Genre	Espèce	Nom	Température de fusion bloc tube	Pouvoir rotatoire	Formule	Réf.
CATHARANTHUS	lanceus	AFMALICINE ou YOHIMBINE	261°	- 55° alcool 96°	$C_{21}H_{24}O_3N_2$	17
		YOHIMBINE	245°	+100° alcool 96° + 11° chlorof.	$C_{21}H_{26}O_3N_2$	26
		TETRAHYDRO- ALSTONINE	231°	- 96° +4° pyridine	$C_{21}H_{24}O_3N_2$	24 bis
		LANCEINE	198°	+ 64° alcool 96° + 62° chlorof.	$C_{20}H_{24}O_3N_2$	24 bis
	trichophyllus	AFMALICINE	261°	-55° alcool 96°	$C_{21}H_{24}O_3N_2$	

VINCA MINOR

Extraction des alcaloïdes totaux

Trois techniques ont été suivies qui permettent de séparer la vincamine de la vincamirine.

a) Les feuilles séchées sont grossièrement pulvérisées, alcalinisées par l'ammoniaque et extraites par le benzène au Soxhlet. La solution verdâtre obtenue laisse déposer l'acide ursolique ($C_{30}H_{48}O_3$, F 278°) que l'on sépare par filtration.

Le filtrat est épuisé par l'acide chlorhydrique dilué. La solution acide décantée renfermant les alcaloïdes, est rendue alcaline par l'ammoniaque et le précipité formé est extrait par l'éther. Après distillation de l'éther, le résidu sec représente les alcaloïdes totaux ; rendement 0,25 %.

b) L'épuisement de la poudre de feuilles est réalisé par de l'alcool acétique (éthanol 700 parties, eau 300 parties, acide acétique 15 parties en volume). Après élimination de l'alcool par distillation, la solution aqueuse acétique des alcaloïdes est filtrée pour séparer des résines verdâtres, puis traitée comme précédemment. Rendement 0,34 %.

c) A titre d'exemple détaillé sur 1 kg.

La poudre est alcalinisée par l'ammoniaque, lixiviée par 10 litres d'éther. La solution étherée est extraite par l'acide chlorhydrique à 5 p.100 (300 et 200 ml), puis lavée avec 200 ml d'eau. Les solutions aqueuses rougeâtres après lavage par l'éther sont alcalinisées par l'ammoniaque, et extraites par l'éther (500 et 200 ml).

Les solutions étherées réunies, séchées sur du sulfate de sodium anhydre, sont distillées à sec : rendement 0,35 % (laque rougeâtre).

Les 3,5 g sont repris par 20 ml de méthanol ; la solution obtenue abandonne après 48 heures, un précipité cristallin formé d'aiguilles blanches et de petits prismes jaunes (dont le poids total varie selon les expériences de 135 à 225 mg) que l'on recueille.

Par épuisements fractionnés par le méthanol chaud, on sépare les aiguilles plus solubles. Ces solutions convenablement concentrées, laissent cristalliser la vincamine dont on poursuit la purification par cristallisations fractionnées : poids 30 à 45 mg ; F : 232° sur bloc ou en tube scellé ; $[\alpha]_D^{20} = + 41^\circ$ (c = 0,7 pyridine) et $[\alpha]_D^{20} = - 13^\circ$ (c = I chloroforme).

Les prismes jaunes, non solubilisés dans le méthanol au cours de l'opération précédente, sont mis en solution dans le benzène & chromatographiés sur alumine standard. Par élution au moyen du même solvant, on obtient selon les expériences 80 à 105 mg de vincamine en prismes blancs que l'on fait recristalliser dans le méthanol : F 271° (instant. sur bloc), F : 218° 220° en tube scellé sous vide ; $[\alpha]_D^{20} = + 33^\circ$ (c = 0,8 pyridine, et $[\alpha]_D^{20} = - 7^\circ$ (c = I chloroforme).

La chromatographie directe sur alumine des alcaloïdes totaux en solution benzénique, donne par élution avec le même solvant : tout d'abord des bases amorphes, puis la vincamine, et ensuite par élution avec le mélange benzène-éther (9 parties - 1 partie) la vincamine.

Analyse d'un échantillon de vincamirine :

		C	H	O	N
pour $C_{21}H_{26}O_3N_2$	calculé %	71,16	7,39	13,54	7,90
	trouvé %	71,3	7,3	13,5	7,8

pour I OCH_3 calculé % : 8,75

trouvé % : 8,8

VINCA MAJOR

Extractions des alcaloïdes totaux

M.-M. Janot et J. Le Men avaient utilisé une technique dont le principe était le suivant : la poudre de feuilles ou tiges est épuisée par lixiviation avec un mélange éthanol-eau acétique (700-300-50 ml). La colature privée d'alcool est filtrée pour éliminer la chlorophylle et diverses résines, puis alcalinisée par de l'ammoniaque et extraite par de l'éther. Par distillation, on obtient les alcaloïdes totaux assez impurs. Des passages successifs en phase aqueuse acide et en phase organique (éther) permettent une bonne purification.

Nous avons préféré la technique suivante qui nous a servi pour tous nos essais :

1 kg de poudre de feuilles et de tiges, alcalinisé par 500 ml d'une solution à 10 % d'ammoniaque, est épuisé par lixiviation à froid avec de l'éther : 10 à 12 litres d'éther sont généralement nécessaire pour extraire complètement les alcaloïdes. La solution étherée est épuisée méthodiquement par de l'acide chlorhydrique à 3 % (11,500 ml, 3 fois 200 ml) et par l'eau (2 fois 200 ml). Ces solutions acides réunies et lavées par de l'éther (500 ml), sont alcalinisées par de l'ammoniaque et les bases déplacées sont extraites par de l'éther (2 l. , 2 fois un L., 4 fois 500 ml). Les solutions étherées, lavées à l'eau, séchées sur du sulfate de sodium neutre et sec, sont distillées. On obtient ainsi un résidu beige clair d'alcaloïdes totaux.

Des essais d'extraction des alcaloïdes ont été faits sur la poudre alcalinisée par épuisement continu au Soxhlet avec le benzène. Les rendements en alcaloïdes observés sont sensiblement inférieurs et les passages en phases aqueuse et organique, sont rendus difficiles par apparition d'émulsions stabilisées par l'acide ursolique contenu dans la plante.

Séparation des alcaloïdes cristallisée

Cette séparation est effectuée par chromatographie sur alumine d'activité I.

10 g. d'alcaloïdes totaux, solubilisés dans 300 ml de benzène sont versés sur une colonne d'alumine convenablement préparée. On recueille successivement des fractions de 150 ml, chacune d'elles est évaporée à sec et pesée, ce qui permet de suivre l'élu-tion.

Voici à titre d'exemple les résultats observés lors d'une opération sur 10 g. d'alcaloïdes totaux.

<u>SOLVANT D'ELUTION</u>	<u>N° des FRACTIONS</u>	<u>POIDS</u>	<u>TOTAL</u>
BENZENE	1	0,32 g	2,01 g
	2	0,88 g	
	3	0,32 g	
	4	0,26 g	
	5	0,10 g	
	6	0,06 g	
	7	0,04 g	
	8	0,03 g	

<u>SOLVANT D'ELUTION</u>	<u>N° des FRACTIONS</u>	<u>POIDS</u>	<u>TOTAL</u>
BENZENE 10 % ETHER	9	0,12 g	
	10	0,41 g	
	11	0,38 g	
	12	0,21 g	
	13	0,17 g	
	14	0,09 g	
	15	0,05 g	1,43 g
BENZENE 20 % ETHER	16	0,09 g	
	17	0,25 g	
	18	0,17 g	
	19	0,08 g	
	20	0,05 g	0,63 g
ETHER	21	0,37 g	
	22	0,71 g	
	23	0,62 g	
	24	0,43 g	
	25	0,21 g	
	26	0,13 g	
	27	0,14 g	
	28	0,09 g	
	29	0,06 g	2,76 g
ETHER 5 % METHANOL	30	0,12 g	
	31	0,89 g	
	32	0,66 g	
	33	0,25 g	
	34	0,12 g	
	35	0,09	2,13 g

RESERPINE : Les fractions 1 à 6 reprises par le méthanol, cristallisent immédiatement ; on recueille par filtration 1,2 g de réserpine brute colorée en jaune ; après recristallisation dans

le méthanol, on obtient 0,85 g de réserpinine encore très légèrement colorée en jaune : F 242°.

AKUAMMINE (VINCAMAJORIDINE) : lors de la concentration des fractions 22 à 25 éluées à l'éther, il se produit une cristallisation spontanée. Il est alors prudent de filtrer immédiatement. On recueille ainsi 0,36 g d'akuammine (vincamajoridine) brute : F : 306° (bloc), qui sont purifiés par recristallisation dans 20 ml de méthanol ; les cristaux qui se forment sont gonflés de solvant, après filtration et séchage de deux heures à 100° sous vide, on obtient 310 mg d'akuammine en poudre microcristalline : F 316° (bloc), F 258° corr. en tube capillaire scellé sous vide.

VINCAMAJINE : Les fractions 9 à 20 éluées par les mélanges benzène éther et pesant 2,06 g sont rassemblées, solubilisées dans 100 ml de chloroforme et la solution obtenue est agitée avec 100 mld' une solution normale d'acide chlorhydrique. La couche chloroformique est décantée et distillée à sec, le résidu pesant 1,3 g est épuisé à chaud par 25 ml d'acétone anhydre. Le solvant fortement coloré en brun est éliminé par filtration. La poudre beige 0,35 g restée sur le filtre, est encore lavée par quelques ml d'acétone bouillant, puis finalement recristallisée dans l'éthanol à 96°, on obtient ainsi 280 mg de chlorhydrate de vincamajine : F 260° , $[\alpha]_D^{20} = -40^\circ$ (c = 0,38 eau). Le passage à la base est effectué suivant les techniques habituelles. La vincamajine base, cristallise du méthanol en grosses aiguilles prismatiques, incolores qui s'effleurissent par chauffage à 100°. F 225°, $[\alpha]_D^{20} = -55 \pm 5^\circ$ (c = 0,45 dans l'alcool à 96°).

Remarque 1 : Les alcaloïdes restés dans la couche aqueuse chlorhydrique, fournissent encore par passage à l'état de base et chromatographies répétées des traces de vincamajine.

Remarque 2 : Certains échantillons de Vinca major examinés, n'en renferment pas de vincamajine. Ce fut malheureusement le cas pour la plus grosse partie de la matière première que nous avons utilisée et qui avait été récoltée dans le Velay.

VINCAMAJOREINE : Nous n'avons jamais pu isoler personnellement la vincamajoréine décrite par M.-M. Janot et J. Le Men ; et pour la technique qui a permis d'isoler l'alcaloïde, nous renvoyons à la référence (21)

ETUDE CHIMIQUE DES ALCALOÏDES: VINCAMAJINE, AKUAMINE

VINCAMAJINE

Hydrolyse alcaline : 200 mg de vincamajine base, mis en solution alcoolique 2 N de KOH sont chauffés 2 heures à reflux sur B-M. Au milieu réactionnel acidifié par une quantité convenable d'acide chlorhydrique, on ajoute 20 ml d'eau et l'on distille l'alcool.

La solution aqueuse résultante est alcalinisée par de l'ammoniaque et les bases déplacées sont extraites par de l'éther. La solution aqueuse ammoniacale sera réservée. La solution étherée lavée à l'eau, séchée et distillée, abandonne un produit blanc pesant (110 mg) qui est purifié par sublimation à 230° sous 0,01 mm Hg et cristallisation dans le méthanol. On obtient ainsi 22 mg de produit A pur : P 268-270°.

Analyse du produit A :

	C	H	N	
trouvé %	74,4	7,8	8,8	- 8,3
Pour $C_{21}H_{26}O_2N_2$				
calculé %	74,52	7,74	8,28	

Spectre U V : en solution alcoolique $c = 6.10^{-4}$ g %

maximums à $\lambda m \mu$ 245 $\log \epsilon$ 3,95

$\lambda m \mu$ 305 $\log \epsilon$ 3,56

Spectre IR en suspension dans le nujol (fig. VIII).

La solution aqueuse ammoniacale précédemment mise de côté est placée dans un cristalliseur sur bain-marie bouillant. Après le départ de l'excès d'ammoniaque, il apparaît un produit en longues aiguilles à la surface du liquide. Ces cristaux isolés par filtration, pèsent 37 mg et fondent à 357° (produit B). Spectre IR en suspension dans le nujol. (fig. IX)

Essai de décarboxylation du produit B.

27 mg sont mis en solution dans 10 ml de solution chlorhydrique 2 N et chauffés 5 heures à reflux. La solution acide refroidie est alcalinisée à la soude et extraite par de l'éther. Par évaporation du solvant, il reste un résidu pesant 5 mg qui n'a pas cristallisé.

Réduction par $LiAlH_4$

278 mg de vincamajine base sont dissous dans 5 ml de tétrahydrofurane et 10 ml d'éther. A cette solution, on ajoute 400mg

de LiAlH_4 et on chauffe 7 heures à reflux sur bain-marie. Après destruction de l'excès de réactif par additions successives d'éther humide, 1 ml de méthanol et 10 ml d'eau, le milieu est acidifié jusqu'à PH 1 par une quantité convenable HCl. L'éther est distillé et l'alumine complexée par addition de 10 g de sel de sel-gnette. La solution est alors alcalinisée à PH 7-8 par de la soude et épuisée par de l'éther jusqu'à réaction négative au réactif de Meyer.

La solution étherée, lavée et séchée sur sulfate de sodium neutre et sec, est distillée. Le résidu, 271 mg, ne cristallise dans aucun solvant usuel.

Il est acétylé par chauffage une heure au bain-marie en présence de 3 ml d'anhydride acétique. Après distillation de l'excès de réactif, le dérivé acétylé restant est repris par 10 ml de benzène et chromatographié sur 2 g d'alumine. Les fractions éluées par un mélange benzène-éther (9-1), sont cristallisées dans l'acétone : on obtient ainsi 25 mg de dérivé acétylé cristallisé : F 199-201°.

<u>Analyse</u>		C	H
	trouvé %	72,9	7,4
Pour $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_3\text{N}_2$	calculé %	72,6	7,4

Spectre IR en suspension dans le nujol (fig. XI)

Spectre U V : $c = 6,76 \cdot 10^{-4}$ g % (fig. X)

maximums : $\lambda_{\text{m}} \mu$ 250 $\log \epsilon$ 3,90

$\lambda_{\text{m}} \mu$ 295 $\log \epsilon$ 3,47

AKUAMINE :

Par la technique du Kuhn-Roth modifiée (39), selon le principe décrit p. 69, nous n'avons observé dans le cas de l'akumaine qu'une seule tache ayant le même RF que celui obtenu avec l'acide acétique.

Acétylation :

0,170 g d'akumaine ont été dissous dans environ 3 ml d'anhydride acétique et chauffés un quart d'heure au bain-marie. On laisse au contact toute la nuit, puis on évapore l'excès de réactif par distillation sous pression. Le résidu est repris dans l'alcool à 96°C, et recristallisé dans l'acétone: F 236 - 237°.

Analyse :

	C	H	O	N
pour $C_{24}H_{28}O_5N_2$ calculé %	67,90	6,65	18,85	6,60
pour $C_{26}H_{30}O_6N_2$ calculé %	66,93	6,48	20,58	6,01
trouvé %	68,2	6,4	19,0	6,8

Spectre UV dans l'alcool à 96: $c = 6,96 \cdot 10^{-4}$ g % (figure V)

maximaux: 250 ; log 3,90

300 ; log 3,46

calculés pour PM : 382

Spectre IR en suspension dans le nujol (figure IV)

VINCA DIFFORMIS

Extraction des alcaloïdes

A) Extraction des alcaloïdes totaux

Nous avons utilisé la technique d'extraction décrite par M.-M. Janot, J. Le Men et C. Fan.

1 kg,2 de feuilles sèches ont fourni 12 g,9 d'alcaloïdes totaux.

B) Séparation des alcaloïdes cristallisés

Les 12,9 g d'alcaloïdes totaux ont été d'abord purifiés par un nouveau passage en phase aqueuse acétique, lavage de cette solution à l'éther, suivi du déplacement des alcaloïdes par l'ammoniaque et extraction à l'éther. On a ainsi obtenu 10,55 g d'alcaloïdes purifiés.

Ces 10,55 g d'alcaloïdes mis en solution dans 300 ml de benzène ont été chromatographiés sur alumine.

Par élution au benzène, on isole 4,2g d'alcaloïdes qui ont fourni par cristallisation dans le cyclohexane 2,14 g de vincamédine : F 186° (spectre IR identique à celui d'un échantillon de vincamédine de référence).

Par élution avec un mélange benzène-éther (9-1), on recueille un produit blanc (545 mg) qui, recristallisé deux fois dans le méthanol, a fourni 280 mg de vincamajine : F 224° (spectre IR identique à celui d'un échantillon de référence de vincamajine).

Les fractions successives ensuite éluées par l'éther, sont distillées séparément. Pour chacune d'elles, on constate avant l'élimination complète du solvant, la précipitation d'une poudre beige qui est immédiatement isolée par filtration. Ces divers dépôts d'apparence identique, sont réunis et cristallisés dans l'acétone. On obtient ainsi l'alcaloïde X en fines aiguilles blanches : $F 255^{\circ}$, $[\alpha]_D^{20} = +45^{\circ}$ ($c = 0,5$ alcool à 96°).

Analyse

		C	H	N
Pour $C_{20}H_{24}O_2N_2$	calculé %	74,08	7,4	8,6
$C_{19}H_{24}O_2N_2$	calculé %	73,0	7,6	8,9
	trouvé %	73,0	7,0	8,7

Spectre U-V : en solution dans l'alcool $c = 5,17 \cdot 10^{-4}$ g %

maximums à $\lambda_m \mu 225$ $\log \epsilon 4,54$

$\lambda_m \mu 280$ $\log \epsilon 3,88$

calculés pour PM 350.

Ce spectre est inchangé en milieu alcalin.

Spectre IR : en suspension dans le nujol (fig. XII).

Etude de la VINCAMÉDINE

I) Dosage des groupements $C-CH_3$ et $C-CH_2-CH_3$

a) Technique ordinaire de Kuhn-Roth (3)

pour deux groupements $C(CH_3)_2$: calculés % 7,34
trouvés % 6,91

b) Technique modifiée (36)

Principe : les acides volatils sont entraînés au fur et à mesure de leur formation lors de l'attaque progressive par le mélange sulfochromique. Après formation des sels de potassium, concentration de la solution et retour aux acides libres par passage sur résine anionique, on chromatographie sur papier les sels de diéthylamine en opérant par comparaison avec les sels de diéthylamine des acides acétique et propionique.

Dans le cas de la vincamédine, nous avons observé une seule tache ayant le même RF que celui obtenu avec l'acide acétique.

II) Hydrogénation

101 mg de vincamédine sont hydrogénés en présence de 30 mg de platine préparé selon la technique Adam.

Volume d'hydrogène absorbé : 11 ml, 8

Volume théorique pour 2 H₂ : 11 ml, 2

III) Réduction par LiAlH₄ --

A 249 mg de vincamédine mis en solution dans 5 ml de tétrahydrofurane et 10 ml d'éther, on ajoute peu à peu 250 mg LiAlH₄. Après 6 heures d'ébullition à reflux, l'excès de réactif est détruit par de l'éther humide et du méthanol, le milieu est rendu acide par de l'acide chlorhydrique dilué, l'alumine complexée par addition de 5 g de sel de seignette et après alcalinisation, le produit qui précipite est extrait par de l'éther. On obtient ainsi 225 mg d'une substance blanche qui ne cristallise pas dans les solvants usuels et que l'on purifie par distillation à 170-180° sous 0mm,01 de Hg.

Spectre U V dans l'alcool : $c = 5,6 \cdot 10^{-4}$ g %

maximums à $\lambda_{m\mu}$ 250 $\log \epsilon$ 3,86

$\lambda_{m\mu}$ 295 $\log \epsilon$ 3,47

calculés pour PM : 338.

Spectre IR en suspension dans le nujol (fig. XVII).

Acétylation

L'huile visqueuse condensée est chauffée une heure sur bain-marie avec 3 ml d'anhydride acétique. Après distillation de l'excès de réactif, le résidu est repris par 10 ml de benzène et chromatographié sur 2 g d'alumine d'activité I. 43 mg sont élués par le benzène, 73 mg par un mélange benzène-éther (9-1) et 108 mg par un mélange benzène-éther (8-2). Cette dernière fraction cristallisée dans l'acétone a fourni 21 mg de produit acétylé par: F 202^{ac}

Analyse

		C	H	N
Pour $C_{23}H_{28}O_3N_2$	calculé %	72,6	7,4	7,36
	trouvé %	72,6	7,2	7,6

Spectre U V : dans l'alcool : $c = 6,64 \cdot 10^{-4}$ g % (fig. XVIII)

maximums à $\lambda_{m\mu}$ 250 $\log \epsilon$ 3,95

$\lambda_{m\mu}$ 295 $\log \epsilon$ 3,44

calculés pour PM 408

IV) Hydrolyse basique de la vincamédine

a) Dosage des acides volatils

exprimés en (CH_3CO) calculé % : 10,5
trouvé % : 11,2

b) Isolement des produits non volatils

400 mg de vincamédine dissous dans 25 ml de potasse alcoolique 2 N, sont chauffés deux heures à reflux. Au milieu acidifié, on ajoute 40 ml d'eau et élimine l'alcool par distillation.

Un chlorhydrate peu soluble, précipite ; il est recueilli et l'on passe à la base : 82 mg, F 210°.

Les eaux-mères acides sont alcalinisées par de l'ammoniaque et la base déplacée est extraite par l'éther : 66 mg : F 206°.

Composé A : Acide vincamédique - La solution ammoniacale précédemment épuisée à l'éther, est placée dans un cristalliseur sur bain-marie. Il apparaît en surface des aiguilles d'acide vincamédique : poids 177 mg, F 357°.

Un échantillon est recristallisé dans le méthanol pour l'analyse.

Analyse du produit séché à l'exsiccateur:

	C	H	N
Pour $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_3\text{N}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ calculé %	68,65	7,05	7,56
trouvé %	68,68	7,07	7,59
	68,49	7,16	

Analyse du produit séché 5 heures à 100° sous 0mm,01 de Hg.

Perte de poids pour 1 H₂O par molécule C₂₁H₂₄O₃N₂ · H₂O

H₂O % calculé : 4,8

trouvé : 3,2

		C	H	N
Pour C ₂₁ H ₂₄ O ₃ N ₂	calculé %	71,57	6,85	7,95
	trouvé %	71,5	6,8	7,8

Pour C ₂₁ H ₂₄ O ₃ N ₂	calculé %	un O(CH ₃)	un N(CH ₃)	un C(CH ₃)	1 H ⁺
		4,26	4,26	4,26	0,28
	trouvé %	0	4,21	3,28	0,43

Spectre U-V : dans l'alcool $c = 6,85 \cdot 10^{-4}$ g %

maximums : $\lambda_{m\mu}$ 250 $\log \epsilon$ 3,88

" : $\lambda_{m\mu}$ 295 $\log \epsilon$ 3,47

calculés pour PM : 352

Spectre IR en suspension dans le nujol (fig. XX).

Composé B : Les fractions basiques précédemment isolées (82 mg et 66 mg) présentant des points de fusion très voisins, ont été purifiées ensemble par chromatographie de leur solution benzénique sur alumine d'activité I.

Par élution à l'éther, on isole une fraction de 92 mg qui est cristallisée pour analyse dans le méthanol : poids 51 mg.

Analyse :

		C	H	N
C ₂₂ H ₂₈ O ₃ N ₂	calculé %	71,71	7,66	7,6

$C_{22}H_{26}O_3N_2$		C	H	N
	calculés %	72,1	7,15	7,65
	trouvé %	71,9	7,6	7,2

un OCH_3 un H^+

$C_{22}H_{26}O_3N_2$			
	calculé %	8,4	0,27
	trouvé %	10,5	0,32

Spectre U-V dans l'alcool = $c = 7,5 \cdot 10^{-4}$ g %

maximum : $\lambda = \mu 250 \log \varepsilon 3,87$

" : $\lambda = \mu 295 \log \varepsilon 3,48$

calculés pour un PM : 350

Spectre IR en suspension dans le nujol (fig. XXI)

Hydrolyse acide de la vincamédine

250 mg de vincamédine, mis en solution dans 30 ml de méthanol anhydre sont chauffés à reflux durant 3 heures sous courant d'acide chlorhydrique gazeux sec. Après distillation du solvant et reprise par 20 ml d'eau, un chlorhydrate peu soluble précipite. Après passage à la base, il donne un produit blanc : poids 130 mg, F 215°.

La solution de chlorhydrates solubles est alcalinisée par l'ammoniaque et extraite par l'éther, on obtient un produit blanc : poids 81 mg, F 218°.

Ces bases sont mises ensemble en solution dans 20 ml de benzène et chromatographiées. Par élution à l'éther, on obtient une fraction de 180 mg qui est purifiée pour analyse par recristallisation dans le méthanol : poids 67 mg, F 228°.

Analyse :

	C	H	N	(OCH ₃)	C-CH ₃	H ⁺
trouvés %	73,35	7,6	8,6	9,35	3,95	0,35
	73,05	7,1				

Spectre U-V dans l'alcool : $c = 6,9 \cdot 10^{-4}$ g %.

maximums : $\lambda_{m\mu}$ 250 $\log \epsilon$ 3,86

" : $\lambda_{m\mu}$ 295 $\log \epsilon$ 3,47

calculés pour un PM : 350.

Spectre IR en suspension dans le nujol (fig. XXII).

CATHARANTHUS ROSEUSa) Extraction des alcaloïdes totaux

1000 g de racines réduits en poudre grossière sont alcalinisés par une solution ammoniacale et lixivés par 6 litres d'éther pendant environ 7 heures.

La solution étherée est épuisée par de l'acide chlorhydrique à 8 % (deux litres), puis par de l'acide chlorhydrique à 5 % (une fois un litre, trois fois 500 ml).

Les solutions acides sont alcalinisées par de l'ammoniaque et extraites par de l'éther (trois litres, une fois un litre). L'évaporation des solutions étherées, préalablement lavées à l'eau et séchées sur sulfate de sodium anhydre, laisse comme résidu 5g d'alcaloïdes totaux sous forme d'une poudre brune.

La solution chlorhydrique, mise de côté après extraction par l'éther, est alcalinisée par la soude et extraite au chloroforme. La solution chloroformique séchée est évaporée. Poids du résidu : 300 mg.

b) Séparation des alcaloïdes cristallisés

Les 5 g d'alcaloïdes, mis en solution dans le benzène, sont chromatographiés sur alumine.

Les fractions benzéniques (poids 1,775 g) ne donnent aucun produit cristallisé.

AJMALICINE : par élution par un mélange benzène éther (9-1), on obtient deux fractions qui recristallisées dans le méthanol conduisent à la δ yohimbine (poids : 0,527 g).

Spectres U V et IR identiques à ceux d'un échantillon d'ajmalicine de référence.

AKUAMINE : l'élution de la colonne est poursuivie par de l'éther puis par un mélange d'éther méthanol. La première fraction éthérée donne un produit cristallisant directement par concentration du solvant et que l'on recueille immédiatement sur shett afin d'éviter qu'il ne se colere en resse: poids: 0,310 g, F 306°.

Spectres U V et IR identiques à ceux d'un échantillon d'akumamine de référence.

LOCHNERINE : les deux fractions suivantes éluées par l'éther méthanol, donnent par concentration de leur solution de fines aiguilles blanches que l'on purifie par recristallisation dans l'acétone elles conduisent à la lechnérine : F 204°, poids 0,698 g Rendement 0,07 %.

Cette technique de séparation des alcaloïdes est très proche de celle publiée par Poisson, Le Men et Janot. Signalons cependant que nous avons obtenu un rendement en lochnérine environ 10 fois supérieur.

./ ...

CATHARANTHUS LANCEUS1) Extraction des alcaloïdes totaux (bases faibles)

1000 g de racines réduites en poudre grossière sont alcalinisées par 550 ml de solution ammoniacale à 2 % et lixiviées par 12 litres d'éther. La solution étherée, faiblement colorée, est épuisée par de l'acide chlorhydrique à 3 % (500 ml plus 5 fois 100ml). Les solutions acides sont alcalinisées à l'ammoniaque et extraites par de l'éther (2 litres plus 1 litre 2 fois 0,5 litre). L'évaporation des solutions étherées préalablement lavées à l'eau et séchées sur sulfate de sodium anhydre, laisse comme résidu les alcaloïdes totaux (bases faibles) sous forme de solide jaunâtre.

Nous avons effectué plusieurs fois cette opération. Le rendement moyen en alcaloïdes totaux observé est de : 1,2 %.

2) Extraction des bases fortes du type ammonium quaternaire

200 g de racines réduites en poudre sont épuisés au soxhlet par du méthanol anhydre jusqu'à disparition de réaction au réactif de Meyer (durée 8 heures). La solution méthanolique est acidifiée par 200 ml d'une solution d'acide acétique à 8 % et le méthanol est éliminé par distillation. La solution aqueuse résultante est filtrée sur papier, et le filtre est lavé par de l'eau acétique à 1 % jusqu'à absence de réaction au Meyer. Les solutions filtrées sont alcalinisées par de l'ammoniaque et extraites par de l'éther (1 litre, plus deux fois 500 ml et deux fois 200 ml). Ces solutions étherées, lavées à l'eau et séchées, sont distillées. Elles abandonnent un solide jaunâtre pesant : 2,5 g, constitué par les bases faibles.

La solution précédemment alcalinisée par l'ammoniaque, est portée à PH 12 par addition de lessive de soude. Il apparaît un trouble jaune rougeâtre qui est extrait par du chloroforme (un litre, 2 fois 500 ml). La solution chloroformique, fortement colorée, est lavée à l'eau, séchée sur chlorure de calcium sec , et concentrée jusqu'à 100 ml. On ajoute alors 100 ml de méthanol et acidifie par 2 ml d'acide chlorhydrique concentré. La solution organique, évaporée à sec, abandonne une huile épaisse rouge brunâtre représentant les chlorhydrates d'alcaloïdes d e forte basicité : poids 0,15 g (rendement 0,08 %). Par mise e n solution dans l'eau ou divers alcools, il n'a pas été possible de faire cristalliser ces chlorhydrates. Nous avons également tenté sans succès de préparer les nitrates ou perchlorates cristallisés.

3) Isolement des alcaloïdes cristallisés : Ajmalicine, Yohimbine Tétrahydroalstonine et Lancéine.

La solution méthanolique des alcaloïdes totaux abandonne à la longue à la température ordinaire et après amorçage, d e s cristaux impurs d'ajmalicine (rendement habituellement observé 5 % des bases totales). Mais la séparation de l'ajmalicine par cette technique n'est pas complète. Nous avons préféré la technique chromatographique.

31 g d'alcaloïdes totaux sont mis en solution dans 800 ml de benzène et chromatographiés sur 600 g d'alumine d'activité I.

AJMALICINE - Par élution avec le benzène, on obtient d'abord un certain nombre de fractions (3 g) qui n'ont pas fourni de produit cristallisé. Les fractions suivantes, reprises séparément

par du méthanol, abandonnent à la longue des prismes jaunâtres (2,6 g) qui recristallisés dans le méthanol, puis l'acétone fournissent 1g7 d'ajmalicine : $C_{21}H_{24}O_3N_2$, F 260°, $[\alpha]_D^{20} = -55^\circ$ (c = 0,5 pyridine).

Spectres U-V et IR identiques à ceux d'un échantillon d'ajmalicine de référence.

YOHIMBINE - L'élution de la colonne est poursuivie par de l'éther. On obtient ainsi, répartis en une dizaine de fractions, 4,3 g d'alcaloïdes. Les fractions du milieu reprises par de l'acétone abandonnent des aiguilles jaunâtres (au total : 0,62 g) qui recristallisées deux fois dans l'acétone, conduisent à la yohimbine pure : $C_{21}H_{26}O_3N_2$, F 245°, $[\alpha]_D^{20} = +55^\circ$ (c = 1 alcool à 96°), $[\alpha]_D^{20} = +11^\circ$ (c = 1 chloroforme).

Spectres U V et IR identiques à ceux d'un échantillon de référence.

LANCÉINE - Enfin par élution avec un mélange éther méthanol (9-1), on obtient une quinzaine de fractions pesant 8,7 g. Les premières de ces fractions mises en solution abandonnent après plusieurs jours de repos à 0°, de volumineux cristaux faiblement colorés en jaune : poids 0,64 g, F 183°. Purifiés par une nouvelle chromatographie et une recristallisation dans le méthanol, ces cristaux fournissent : 0,31 g de lancéine pure : F 196° ; $[\alpha]_D^{20} = +64^\circ \pm 4^\circ$ (c = 0,5 alcool à 96°) et $[\alpha]_D^{20} = +52^\circ \pm 4^\circ$ (c=0,5 chloroforme).

Analyse :

	C	H	N	O	OCH ₃	H ⁺	C-CH ₃
trouvé %	70,15	7,5	6,93	15,31			2,95
	69,9	6,9	7,6	15,6	9,3	0,6	
	69,4	6,9	7,8	16,0	8,2	0,6	
	69,7	6,7	7,9	15,51	8,3		

calculé %

$C_{20}H_{24}O_3N_2$	70,56	7,11	8,23	14,10	9,11	0,29	4,4
$C_{20}H_{26}O_3N_2$	70,15	7,65	8,18	14,02	9,09	0,29	4,3

TETRAHYDROALSTONINE - Toutes les fractions précédemment éluées par le mélange éther méthanol et privées de lancéine, sont rassemblées (8,1 g), solubilisées dans le benzène (500 ml) et soumises à une nouvelle chromatographie sur 150 g d'alumine d'activité I. Le benzène élue d'abord 1 g d'alcaloïdes, puis par élution à l'éther, on obtient un certain nombre de fractions pesant ensemble 3,3 g. Ces 3,3 g sont solubilisés dans 100 ml de chloroforme et l'on réalise un partage de la façon suivante : on dispose en parallèle 4 ampoules à décantation renfermant chacune 100 ml de solution d'HCL N et l'on fait successivement passer dans chacune d'elles, d'abord la solution chargée d'alcaloïdes, puis trois fractions de chloroforme pur de 100 ml chacune.

Seule la première fraction chloroformique recueillie fournit un produit cristallisé en utilisant la technique suivante : le résidu abandonné après distillation du chloroforme, est dissous dans l'eau acétique et les bases libérées par l'ammoniaque, sont extraites par de l'éther.

La solution étherée, séchée et distillée, abandonne un produit coloré en jaune clair 1,9 g qui est repris par 8 ml de méthanol bouillant. Par refroidissement, des aiguilles blanches précipitent (115 mg). Recristallisées dans le méthanol, elles fournissent la tétrahydroalstonine pure, F : 231° ; $[\alpha]_D^{20} = -96^{\circ} \pm 4^{\circ}$ (c = 0,5 pyridine).

Analyse :

	C	H	O	N	OCH ₃	N ⁺
trouvé %	71,3	6,9	14,0	7,9	8,3	0,20
C ₂₁ H ₂₄ O ₃ N ₂ calculé %	71,57	6,86	13,62	7,95	8,80	0,28

Spectre U V : en solution dans l'alcool à 96°

maximums à : $\lambda_{m\mu}$ 225 log ϵ 4,62

$\lambda_{m\mu}$ 280 log ϵ 3,94

inflexion à : $\lambda_{m\mu}$ 280 log ϵ 4,10

Spectre IR en suspension dans le nujol (fig. XXIV) bande NH à $2,95\mu$; bande carbonyle à $5,9\mu$ et bande d'insaturation à $6,2\mu$.

ETUDE DE LA LANCEINE

a) CHLORHYDRATE : 180 mg de lancéine sont dissous dans 5ml d'alcool à 96° . A la solution acidifiée par une goutte d'acide chlorhydrique concentré, on ajoute 50 ml d'éther et laisse au repos 24 heures. Après décantation de la solution organique surnageante, le précipité gommeux de chlorhydrate est repris par le minimum d'alcool à 96° bouillant, puis à la solution refroidie, on ajoute peu à peu de l'éther jusqu'à trouble persistant et laisse cristalliser. On répète deux fois cette cristallisation.

Le chlorhydrate obtenu fond à 274° .

Analyse :

	C	H	Cl
trouvé %	64,6	6,5	9,7

 $C_{20}H_{24}O_3N_2 \cdot HCl$

calculé %	63,76	6,6	9,41
-----------	-------	-----	------

b) ACÉTYLATION : 120 mg de lancéine dissous dans 3 ml d'anhydride acétique sont chauffés une heure au bain-marie bouillant. Après une nuit de repos à la température ordinaire, l'anhydride acétique est distillé. Le résidu est cristallisé dans l'acétone, et fournit de fines aiguilles blanches : poids 24 mg, F : 194°.

Analyse :

	C	H	N
trouvé %	67,8	6,9	7,9

pour $C_{20}H_{24}O_4N_2$

calculé %	67,7	6,72	7,9
-----------	------	------	-----

Spectre U V = c = $6,4 \cdot 10^{-4}$ g % dans l'alcool à 96°.

Spectre IR : en suspension dans le nujol (fig. XVIII).

c) REDUCTION PAR $LiAlH_4$: dans un ballon sec surmonté d'un réfrigérant, on réalise une solution de 396 mg de lancéine dans 5 ml de tétrahydrofurane et 10 ml d'éther sec. Puis on ajoute peu à peu 400 mg de $LiAlH_4$. L'ensemble est chauffé à reflux sur bain-marie pendant 7 heures. L'excès de $LiAlH_4$ est détruit par de l'éther humide et quelques gouttes de méthanol. On ajoute alors 10 ml d'eau et de l'acide chlorhydrique jusqu'à pH 1, puis 10 g de sel de seignette pour complexer l'alumine. La solution est alors alcalinisée et extraite par 500 ml d'éther.

Par distillation de l'éther, on obtient 354 mg de dérivé ré-

duit sous forme d'une laque claire qui n'a pu être cristallisée dans les solvants usuels.

La lancéine réduite est purifiée par distillation à 150-170° sous 0,01 mm de Hg. Un spectre U-V est effectué sur quelques mg de l'huile claire épaisse qui s'est condensée.

Le restant de la lancéine réduite est acétylé par chauffage 1 heure sur bain-marie avec 3 ml d'anhydride acétique.

La lancéine réduite acétylée (225 mg) s'étant refusée à cristalliser, elle est mise en solution benzénique, purifiée par chromatographie sur 2,5 g d'alumine d'activité I. La fraction éluee par le benzène (127 mg) est distillée sous haut vide, mais l'huile épaisse qui s'est condensée, ne cristallise pas.

Sur quelques mg de cette huile, on a effectué un spectre U-V (fig. XVII).

CATHARANTHUS TRICHOPHYLLUSExtraction des alcaloïdes totaux

460 g de poudre provenant des parties aériennes de cette pervenche ont été alcalinisés par l'ammoniaque et extraits par lixiviation au moyen de l'éther.

Les alcaloïdes contenus dans la solution éthérée extractive, sont purifiés par passage en phase aqueuse chlorhydrique, puis de nouveau en phase éthérée après alcalinisation. On obtient ainsi 2,35 g d'alcaloïdes totaux (rendement : 0,5 %) se présentant sous forme d'une poudre brune.

Séparation des alcaloïdes cristallisés

Ces alcaloïdes sont mis en solution benzénique et chromatographiés sur alumine. Les fractions ayant été éluées par le benzène et l'éther, et n'ayant pas fourni directement de corps cristallisé, sont mises en contact avec 20 ml de chloroforme et 20 ml de solution normale d'acide chlorhydrique afin de séparer les bases à chlorhydrates solubles dans le chloroforme.

La phase aqueuse chlorhydrique est alcalinisée par l'ammoniaque et extraite par de l'éther. On obtient ainsi 0,940 g d'alcaloïdes purifiés que l'on chromatographie à nouveau. Par élution au benzène, on isole 460 mg d'alcaloïdes qui, solubilisés dans le méthanol, ont fourni un produit cristallisé (294 mg, F 2562) que l'on identifie à l'ajmalicine par la superposition possible de leurs spectres IR.

TROISIEME PARTIE

ETUDE PHARMACOLOGIQUE ET THERAPEUTIQUE

INTRODUCTION

Bien que nous n'ayons pu réaliser nous-même d'étude pharmacologique sur les alcaloïdes des pervenches, nous croyons utile cependant de rapporter ici brièvement les connaissances acquises jusqu'ici dans ce domaine.

Sauf exception, nous ne mentionnerons pas les propriétés pharmacologiques spéciales à chacun des alcaloïdes puisque beaucoup d'entre eux n'appartiennent pas en propre aux pervenches et qu'ils ont fait l'objet de communications originales à l'occasion de l'étude d'autres plantes.

Par contre, nous donnerons parfois des renseignements sur l'action physiologique de la drogue totale ou de ses préparations galéniques globales.

Ainsi limitée la mise au point ci-dessous rapportée, sera présentée en suivant, une fois encore, la classification botanique.

VINCA MINOR

La pervenche officinale ou Vinca minor n'est plus guère utilisée en thérapeutique. La médecine populaire lui reconnaissait pourtant des propriétés toniques, astringentes, vulnéraires, dépuratives, antihémorragiques et antisécrétoires.

De telles propriétés furent partiellement confirmées en clinique par G. Petit (41) et H. Leclerc (27).

En 1954, Raymond-Hamet (48^{bis}) montre que la vincamine présente chez le chien une très faible action sympatholytique et un effet inhibiteur cardiaque et respiratoire analogue à celui de l'acétylcholine.

Mais la même année, A. Quevauviller, J. Le Men et M.-M. Janot étudient en détail les propriétés pharmacologiques des alcaloïdes totaux de la petite pervenche (46) (47) et arrivent aux conclusions suivantes :

"Les alcaloïdes totaux de Vinca minor apparaissent donc doués de propriétés sympatholytiques sur les centres vaso-constricteurs, puisqu'ils inhibent les réactions hypertensives de l'occlusion des carotides ou de l'excitation faradique du bout central du tronc vago-sympathique. Cette action lytique sur le système nerveux sympathique s'exerce au niveau des ganglions puisque l'effet excitoganglionnaire de l'acétylcholine démasqué après atropine, est parfois complètement empêché et que l'excitation faradique des fibres sympathiques du splanchnique ne provoque plus d'hypertension.

Chez le Chat, la contraction de la membrane nictitante p a r

excitation des fibres préganglionnaires du ganglion cervical supérieur diminue. Ces effets sympatholytiques ne sont pas périphériques, l'action de l'adrénaline étant peu ou pas modifiée. Ils font comprendre pourquoi par répétition des doses, l'hypotension est de moins en moins marquée.

Les alcaloïdes totaux du Vinca minor font également porter leur action sur les ganglions parasympathiques, puisque l'hypotension par excitation faradique du bout périphérique du vague est moins forte, que la bradycardie réflexe adrénalinique disparaît, alors que l'hypotension acétylcholinique est peu modifiée.

Il est probable que ces effets sont dûs aux autres alcaloïdes de la plante, puisque Raymond Hamet n'a reconnu qu'une faible action sympatholytique à la vincamine. En outre aux doses étudiées, 5 à 10 mg/kg, il n'a jamais été observé, in situ, d'action inhibitrice sur le cœur ou la respiration. Celle-ci est au contraire facilitée et la diminution de la force des contractions cardiaques ne s'observe que sur le cœur isolé. Il s'agit d'un effet purement musculaire puisque les alcaloïdes totaux du Vinca minor augmentent fortement le débit des coronaires. Ils sont d'ailleurs doués de propriétés spasmolytiques qui s'exercent sur les fibres lisses des vaisseaux, des bronches et de l'intestin. On comprend ainsi que leur action hypotensive résulte non seulement de leurs propriétés synaptolytiques, mais aussi de leurs effets vaso-dilateurs périphériques.

Légèrement excitants du système nerveux central, ils ne sont analgésiques qu'à fortes doses, mais ont une activité anesthésique locale de surface atteignant près des trois quarts de celle de la cocaïne. "

"Les alcaloïdes totaux du Vinca minor L. dont la DL50 p a r voie buccale est chez la Souris de 500 mg/kg, présentent des propriétés pharmacodynamiques qui permettent de les classer parmi les ganglioplégiques spasmolytiques d'origine végétale."

Si, comme le rapportent les auteurs précités, l'action pharmacologique des alcaloïdes totaux est plus complète et plus variée que celle de la vincamine, ces alcaloïdes totaux ne semblent pas pour autant être les seuls principes actifs de la drogue.

G. Gazet du Chatelier et ED.Strasky (6) ont en effet montré , par étude sur le coeur, que les préparations galéniques de la petite pervenche sont plus actives que les alcaloïdes totaux qu'elles renferment.

Tout récemment des auteurs polonais (9) (10) (31) (55) o n t encore confirmé la supériorité d'action des préparations galéniques. Ces mêmes auteurs ont de plus procédé à une étude clinique et ont ainsi montré qu'à la dose de 3 g par jour la poudre d e feuilles de petite pervenche est un médicament hypotenseur digne d'intérêt qui diminue à la fois les pressions systolique et diastolique et calme les troubles subjectifs de l'hypertension.

VINCA MAJOR

A. Quevauviller, J. Le Men et M.-M. Janot (48) ont procédé à une étude pharmacologique des chlorhydrates d'alcaloïdes totaux du Vinca major qui a porté sur les points suivants :

- 1) Toxicité aigue chez la souris.
- 2) Action sur la respiration et le système cardio-vasculaire du chien.
- 3) Action sur le système nerveux autonome du Chien.
- 4) Action sur la fibre musculaire lisse.
- 5) Action sur le coeur isolé du lapin.

Les conclusions rapportées par ces auteurs sont les suivantes :

" Les chlorhydrates d'alcaloïdes totaux de Vinca major L. (DL 50 : souris voie intraveineuse = 37 mg/kg) présentent des propriétés sympatholytiques, périphériques et surtout ganglionnaires et des propriétés parasympatholytiques ganglionnaires. Ils sont hypotenseurs vaso-dilatateurs périphériques et coronariens , et ont une faible action dépressive sur la fibre musculaire lisse des vaisseaux. S'ils excitent le péristaltisme intestinal in situ, ils dépriment la fibre intestinale in vitro et sont doués de propriétés anesthésiques locales. Comme les alcaloïdes totaux de Vinca minor L. , ce sont des ganglioplégiques spasmolytiques, mais ils sont plus légèrement sympatholytiques périphériques".

VINCA PUBESCENS

Orechoff Gurevitch et Norkina (35) ont reconnu aux alcaloïdes totaux de cette espèce et aux alcaloïdes cristallisés qu'ils en ont isolé : vinine et pubescine des propriétés hypotensives d'origine sympatholytiques.

VINCA DIFFORMIS

Dans une communication personnelle, le Docteur Estève a bien voulu nous faire savoir que les alcaloïdes totaux des feuilles du Vinca difformis présentent chez le chien et le chat un effet hypotenseur assez puissant mais fugace.

CATHARANTHUS ROSEUS

Depuis longtemps cette plante est utilisée en thérapeutique populaire en Afrique et en Australie notamment comme drogue antidiabétique.

Divers auteurs australiens (5) (28) (60) se sont penchés sur cette propriété supposée du Catharanthus roseus. Mais leurs conclusions ne sont pas toujours en accord. Pour certains l'action antidiabétique est nulle, pour d'autres, elle est faible et serait en liaison avec une action faiblement digitalique de la drogue.

Tout récemment M.G. Repiton et J. Guillaumin (49) affirment la réalité de l'action antidiabétique et pensent que le principe actif serait représenté par un hétéroside.

En dehors de cette action antidiabétique encore incertaine, le Catharanthus roseus présente comme l'ont montré de façon indubitable R. Paris et H. Moyse-Mignon (37) des propriétés hypotensives et sympatholytiques qui sont dues aux alcaloïdes renfermés dans cette drogue.

Tout récemment, l'ajmalicine, alcaloïde cristallisé principal du Catharanthus roseus, vient d'être introduit en thérapeutique comme médicament vasodilatateur coronarien et périphérique (29) (44). Cet alcaloïde possède du point de vue pharmacologique la remarquable propriété d'inverser à la fois les propriétés tensives de l'Adrénaline et celles de la nor-adrénaline.

AUTRES PERVENCHES

Les autres pervenches tropicales ne semblent pas avoir fait l'objet d'étude pharmacologique spéciale, mais la présence d'ajmalicine dans chacune d'elles laisse à penser l'existence de propriétés pharmacologiques analogues à celles du Catharanthus roseus.

CONCLUSION

Les études pharmacologiques sur les alcaloïdes des pervenches, montrent que ce sont des "sympatholytiques majeurs, des ganglioplégiques spasmolytiques et des vaso-dilatateurs", qui confèrent aux pervenches la nette propriété hypotensive.

Elles justifient jusqu'à un certain point les emplois anciens en médecine populaire et autorise à penser que des usages raisonnés pourraient être envisagés en thérapeutique.

./...

CONCLUSION GENERALE

En conclusion, il existe deux sortes de pervenches : les pervenches des régions tempérées appartenant au genre Vinca et les pervenches des régions tropicales appartenant au genre Catharanthus.

Ces plantes, longtemps confondues du point de vue classification botanique, sont distinctes non seulement du point de vue de leur répartition géographique, mais aussi du point de vue de la morphologie de la fleur, comme l'ont décrit quelques auteurs.

Par contre, l'étude anatomique que nous avons effectuée, ne laisse pas apparaître de différences fondamentales entre les deux genres, chez lesquels on retrouve d'ailleurs les caractères généraux de la famille des Apocynacées.

Au cours de notre travail, nous avons particulièrement insisté sur l'espèce de Vinca minor puisqu'elle est la seule officinale, afin d'écarter la falsification possible avec le Vinca major.

Qu'elles appartiennent au genre Vinca ou au genre Catharanthus toutes les pervenches européennes ou tropicales étudiées renferment des alcaloïdes.

Tous ces alcaloïdes appartiennent au groupe des alcaloïdes indoliques et indoliniques et se rapprochent ainsi des bases habituellement trouvées chez les autres genres botaniques de la famille des Apocynacées : *Rauwolfia*, *Alstonia*, *Ronaralia*, *Vosacanga*, etc ...

Les pervenches Vinca sont actuellement les seules plantes des régions tempérées renfermant des alcaloïdes de ce type.

Nous avons précisé les techniques d'extraction et de séparation des divers alcaloïdes présents dans toutes les espèces étudiées. Ce travail nous a conduit, en dehors de la séparation des alcaloïdes déjà connus, à l'isolement à partir de:

"VINCA DIFFORMIS : de la vincamajine et d'un alcaloïde (alcaloïde "X") paraissant nouveau.

CATHARANTHUS LANCEUS : de la tétrahydroalstonine et d' un deuxième alcaloïde original "la lancéine"

CATHARANTHUS TRICHOPHYLLUS : de l'ajmalicine .

Nous avons de plus effectué diverses expériences en vue d e préciser la structure des alcaloïdes dont la constitution n' e st pas connue.

vincamine et ses isomères
akummine
vincamajine
vincamédine
lancéine .

Notre effort a particulièrement porté sur la détermination des groupements fonctionnels de la vincamajine et de la vincamédine . Ce dernier alcaloïde pouvant être considéré comme une O- ac é tyl vincamajine.

Au cours de ce travail, nous avons été bien souvent gênée par l'insuffisance de matières premières.

REFERENCES

- 1) Aghoramurthy (K.) et Robinson (Sir Robert), Tetrahedron, 1957 I , 172.
- 2) Arnold (W.), Von Philipsborn (W.), Schmid (H.) et Karrer (P), Hel. Chim. Acta, 1957, 40, 705.
- 3) Bickel (H.), Schmid (H.) et Karrer (P.), Helv. Chim. Acta , 1955, 38, 649.
- 4) Chatterjee (A.), Talapatra (S.K.), Sc. and Cult. , 1955, 20, 568.
- 5) Corkhill (A.B.) et Douth (M.), Med. J. Aust, 1930, 213.
- 6) Gaset du Chatelier (G.) et Strasky (E.D.), Ann. pharm. fr., 1956, 14, 674.
- 7) Goodson (J.H.), J. Chem. Soc. 1932, 2626.
- 8) Goodwin (S.) et Horning (E.C.), Chem. and Ind. 1956, 846.
- 9) Hano (J.) et Maj. (J.) , Pol. Tyg. Lek, 1956, II, 264.
- 10) Hano (J.) et Maj. (J.) , Acta Pol. Pharm., 1957, N° 3, 171.
- 11) Henry (T.A.) et Sharp (T.A.), J. Chem. Soc. 1927, 1950.
- 12) Henry (T.A.) J. Chem. Soc. 1932, 2759.
- 13) Janot (M.-M.), Hommage au Doyen René Fabre, 1956, 201.
- 14) Janot (M.-M.) , XV Congrès de Chimie pure et appliquée (Zurich 1955).
- 15) Janot (M.-M.) , Goutarel (R.), Bull. Soc. Chim. Fr. 1951, 18 588.

- 16) Janot (M.-M.), Le Men (J.), C.R. Acad. Sc. 1954, 238, 2550.
- 17) Janot (M.-M.), Le Men (J.), C.R. Acad. Sc. 1954, 239, 1311.
- 18) Janot (M.-M.), Le Men (J.), C.R. Acad. Sc. 1955, 240, 909.
- 19) Janot (M.-M.), Le Men (J.), C.R. Acad. Sc. 1955, 241, 767.
- 20) Janot (M.-M.), Le Men (J.), Ann. pharm. fr. 1955, 13, 325.
- 21) Janot (M.-M.), Le Men (J.), Bull. Soc. Chim. Fr, 1954, 707.
- 22) Janot (M.-M.), Le Men (J.), C.R. Acad. Sc. 1956, 243, 1789.
- 23) Janot (M.-M.), Le Men (J.), Aghoramurthy (K.), Robinson
(Sir Robert) Experientia, 1955, II, 343.
- 24) Janot (M.-M.), Le Men (J.), Fan (C.) , Ann. Pharm. fr.
1957, 15, 513.
- 24bis) Janot (M.-M.), Le Men (J.), Gabbai (Y.) Ann. Pharm. fr.
1957, 15, 474.
- 25) Janot (M.-M.), Le Men (J.), Hammouda (Y.), C.R. Acad. Sc.
1956, 243, 85.
- 26) Janot (M.-M.), Le Men (J.) , Hammouda (Y.), Ann. Pharm. fr.
1956, 14, 341.
- 27) Leclerc (H.) Remèdes des champs et des bois, 1926.
- 28) Lee (D.H.K.) et Drew (W.R.M.), Med J. Aust. 1928, 699.
- 29) Lian (C.), Presse méd. , 1957, 66, 1477.
- 30) Lucas (H.) , Archiv. der Pharm, 1859, 147, 147.
- 31) Maj (J.) , Farm. Pol. 1956, 12 , 85.

- 32) Metcalfe (C.R.) et Chalk (L.), *Anatomy of the Dicotyledons*, Oxford, 1905, 907.
- 33) Millson (M.F.), Robinson (Sir Robert), Thomas (A.F.), *Experientia* 1953, 9, 89.
- 34) Mors (B.), Zaltman (P.), Beerlboom (J.J.), Pakrashi (S.C.), Djerassi (C.), *Chem. and Ind.* 1956, 173.
- 35) Orechoff (A.), Gurevitch (H.), Norkina (S.), *Archiv. der Pharm.* 1934, 272, 70.
- 36) Pailer (M.) et Belohlav (L.), *Monats. Chem.* 1954, 85, 1055.
- 37) Paris (R.), Moyse-Mignon (H.), *C.R. Acad. Sc.* 1953, 236, 1993.
- 38) Paris (R.), Moyse-Mignon (H.), *C.R. Acad. Sc.* 1957, 245, 1265.
- 39) Percheron (F.) et Goutarel (R.) *Bull. Soc. Chim. fr.* 1957, 1198.
- 40) Pernet (R.), Meyer (G.), Bosser (J.M.), Ratsiandavana (G.) présenté par Combes (R.) , *C.R. Acad. Sc.* 1956, 243, 1352.
- 41) Petit (G.), *Courrier med.* 1922, 47, 541.
- 42) Pichon (M.), *Mem. Museum Hist. Nat. Paris*, 1948, 27, fasc.6.
- 43) Pichon (M.), *Bull. Museum*, 1951, 23, N° 4.
- 44) Pieri (J.), Wahl (M.) , Casalonga (J.), Ambrosi (G.), Doucet (R.), *Presse méd.* 1957, 70, 1569.
- 45) Poisson (J.) , Le Men (J.), Janot (M.-M.), *Bull. Soc. Chim. fr.* 1957, (fasc. 4), 610.

- 46) Quevauviller (A.), Le Men (J.), Janot (M.-M.); C.R. Soc. Biol. 1954, 548, 1791.
- 47) Quevauviller (A.), Le Men (J.), Janot (M.-M.), Ann. pharm. fr. 1954, 12, 799.
- 48) Quevauviller (A.), Le Men (J.), Janot (M.-M.), Ann. pharm. fr. 1955, 13, 328.
- 48^{bis}) Raymond-Hamet, C.R. Soc. Biol. 1954, 148, 1082.
- 49) Repiton (M.G.) et Guillaumin (J.), Bull. Soc. Pharm. Marseille, 1956, 573.
- 50) Rutishauser (F.) La petite pervenche Vinca minor L. Etude historique et chimique. Thèse Doct. Univ. pharm. Paris, 1932.
- 51) Scheindlin (J.) et Rubin (N.) J. Amer. Pharm. Ass. 1955, 44, 6.
- 52) Schlittler (E.) et Furlenmeier (A.), Helv. Chim. Acta, 1953, 36, 2017.
- 53) Selederer (H.) Systematische Anatomie Der Dicotyledonen, Stuggart, 1899, 597.
- 54) Stauffacher (D.), Hofmann (A.), Seebeck (E.), Helv. Chim. Acta 1957, 40, 705.
- 55) Szczeklik (E.), Hano (J.), Bogdanikowa (B.), Maj. (J.), Obditka (Z.), Polskiego, Tygodnika Lekarskiego, 1957, R. 12, N°4.
- 56) Talapatra (S.K.) et Chatterjee (A.), Sci. and Cult. d'après C.A. 1957, 22, 692.

- 57) A.F. Thomas, Chem. and Ind. 1954 , 489.
- 58) Vintilesco (J.) et Ioanid (N.I.) Bull. Soc. Chim. Rom. 1932, 14 , 12.
- 59) Vintilesco (J.) et Ioanid (N.I.) Bull. Soc. Chim. Biol. 1953, 15. 63.
- 60) Wye (L.J.J.) et Fitzgerald (M.E.) Med. J. Aust. 1928, 626.
- 61) Yunusov (S. Yu.), Yuldashev (P. Kh.) et Plekhanova (N.V.), d'après C.A. 1957, 11487.
- 62) Yunusov (S. Yu.), Yuldashev (P. Kh.) d'après C.A. , 1957, 16611.
- 63) Yunusov (S. Yu.), Yuldashev (P. Kh.) d'après C.A., 1958, 3263.
- 64) Zolonitskaya (S. Ya.) d'après C.A., 1954, 11727 e.
-

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION

PREMIERE PARTIE

ETUDE BOTANIQUE	1
1) Systématique	3
2) Anatomie des Racines	13
" des tiges	16
" des feuilles	18

DEUXIEME PARTIE

ETUDE CHIMIQUE DES ALCALOIDES	25
A) Etude théorique:	
1 - Vinca minor - vincamine - vincamirine.	27
2 - Vinca major - réserpinine, vincamajorine, vincamajoridine, vincamajine...	32
3 - Vinca difformis - vincamédine, sarpagine, vincamirine, vincamajine.....	43
4 - Autres Vinca	59
5 - Catharanthus roseus - ajmalicine, lochnérine, akuamine, serpentine	60
6 - Catharanthus lanceus - ajmalicine, yohimbine, tetrahydroalstonine, lancéine	61
7 - Catharanthus trichophyllus - ajmalicine	65
B) Etude expérimentale	75

TROISIEME PARTIE

ETUDE PHARMACOLOGIQUE	111
CONCLUSION GENERALE	120
BIBLIOGRAPHIE	122

